„Cheirotoxin“, ein herzwirksames Glykosid, sowie andere Inhaltsstoffe von Goldlacksamen (Cheiranthus Cheiri L.)

Verkürzte Fassung der

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HEINRICH ALBERT SCHWARZ

aus Seuzach (Zürich)

CITY-DRUCK AG., ZÜRICH

1946

„Cheirotoxin“, ein herzwirksames Glykosid, sowie andere Inhaltsstoffe von Goldlacksamen (Cheiranthus Cheiri L.)

Verkürzte Fassung der

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HEINRICH ALBERT SCHWARZ

aus Seuzach (Zürich)

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

CITY-DRUCK AG., ZÜRICH

1946

Genehmigt von der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

Auf Antrag der Herren Professoren
Dr. T. REICHSTEIN und Dr. K. LEUPIN

Basel, den 20. November 1945. Prof. Dr. P. HUBER
Dekan

Herrn Heinrich Schwarz wurde von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 20. November 1945 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 20. November 1945 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

„Untersuchung der Samen des Goldlacks (Cheiranthus Cheiri L.) unter besonderer Berücksichtigung von herzwirksamen Inhaltsstoffen"

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

Separatabdruck aus:

„Pharmaceutica Acta Helvetiae" **21**, 250—285, 1946.

Meinem hochverehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. T. REICHSTEIN

möchte ich an dieser Stelle für das rege Interesse,

das er dieser Arbeit stets entgegenbrachte

und für die vielen Anregungen, die ich von ihm

empfangen durfte,

meinen herzlichen Dank aussprechen.

Meinen lieben Eltern

gewidmet.

„Cheirotoxin", ein herzwirksames Glykosid, sowie andere Inhaltsstoffe von Goldlacksamen (Cheiranthus Cheiri L.)[2].

Der besonders als Zierpflanze bekannte, aber auch in der Schweiz (Tessin und Westschweiz) wild wachsende Goldlack (Cheiranthus Cheiri L.), eine Crucifere, ist früher als Arzneimittel, besonders bei Herzleiden, Menstruationsstörungen und Gicht, und auch als Abortivum verwendet worden. Im Altertum wurden vor allem die Samen und Wurzeln dieser Pflanze benützt.

Auf die digitalisartige Wirkung von Goldlackextrakten bei der Prüfung am Frosch machten zuerst *Schlagdenhauffen* und *Reeb*[3] aufmerksam. *Reeb*[4] vermochte später aus Blättern und Samen das herzwirksame Prinzip in Form eines amorphen Pulvers zu isolieren und sprach die Vermutung aus, daß es ein Glykosid enthielte, das er *Cheiranthin* nannte. Ferner isolierte er einen krist. N-haltigen Stoff vom Smp. 73–74°, der eine in vieler Beziehung dem Chinin ähnliche Wirkung aufwies und dem er den Namen *Cheirinin* gab.[5] Späteren Forschern[6, 7] gelang es jedoch nicht, das von *Reeb* angegebene Cheiranthin aus der Pflanze zu erhalten. *Schneider* und Mitarbeiter[8, 9] isolierten statt dessen ein krist. Senfölglykosid, das *Glucocheirolin* genannt wurde und keine Spur von Herzwirkung zeigte. Trotzdem wurde von *Wehmer*[10] die Vermutung ausgesprochen, daß das Glucocheirolin mit dem Cheiranthin *Reebs* identisch sein könnte. In neuerer Zeit wiesen *Jaretzky* und *Wilcke*[11] auf diesen Widerspruch hin und versuchten, um die in der Literatur bestehenden Unstimmigkeiten aufzuklären, «das herzwirksame Prinzip auf chemisch-analytischem Wege

[2] Auszug aus der Dissertation *H. Schwarz*, Basel 1945.
[3] *F. Schlagdenhauffen, M. Reeb*, Journ. de Pharm. d'Alsace-Lorraine (1896), zitiert nach [4].
[4] *M. Reeb*, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *41*, 302 (1898).
[5] *M. Reeb*, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *43*, 130 (1899).
[6] *Ph. Wagner*, Chem.-Ztg. *32*, 76 (1908).
[7] *W. Schneider*, Ber. dtsch. chem. Ges. *41*, 4466 (1908); *42*, 3416 (1909).
[8] *W. Schneider, W. Lohmann*, Ber. dtsch. chem. Ges. *45*, 2954 (1912).
[9] *W. Schneider, L. A. Schütz*, Ber. dtsch. chem. Ges. *46*, 2634 (1913).
[10] *C. Wehmer*, Die Pflanzenstoffe (2. Aufl., Jena 1929), S. 415.
[11] *R. Jaretzky, M. Wilcke*, Arch. Pharmaz. *270*, 81 (1932).

zu ermitteln». Es gelang ihnen auch, aus den entfetteten Samen ein amorphes Pulver zu erhalten, das dem Cheiranthin *Reebs* entsprochen haben dürfte. Es zeigte einen Smp. von 125°, ließ sich jedoch nicht kristallisieren. Die Wirksamkeit betrug etwa 420 FD/mg, wobei die Tiere unter den typischen Erscheinungen der Digitalisvergiftung starben. Die Substanz enthielt keinen Schwefel, wohl aber 2,5 % Stickstoff, der jedoch von beigemengtem Cheirinin herrühren dürfte. Die Verfasser stellten ferner fest, daß die Samen den oder die Wirkstoffe in größter Konzentration enthalten. An zweiter Stelle folgen die Blätter, dann die Früchte und Blüten. Sehr arm waren die Stengel, und ganz wirkstofffrei schienen die Wurzeln zu sein. Eine Untersuchung von anderen Arten der Gattung Cheiranthus ergab, daß mit Ausnahme von Cheiranthus maritimus alle die typische Herzwirkung aufweisen. Die genannte Art weicht auch in ihrem Habitus von den anderen Cheiranthus-Arten ab. Weiter wurden noch andere Cruciferen geprüft, wobei sich alle untersuchten Erysimum-Arten als herzwirksam erwiesen, ebenso auch zwei Arten von Sisymbrium. Besonders wirksam waren die Blätter von Erysimum linifolium und Erysimum crepidifolium. *Berger*[12] isolierte aus letzterem einen krist. Bitterstoff, «Erysimupikron», vom Smp. 230°, für den er die Formel $C_{20}H_{24}O_5$ angab. Aus anderen Cruciferen ist die Isolierung reiner herzwirksamer Stoffe bisher nicht gelungen.

Das oben erwähnte, für Goldlack und verwandte Arten[13, 14] typische krist. Senfölglykosid Glucocheirolin (I) zeigt in seinem Aufbau eine große Ähnlichkeit mit dem myronsauren Kalium[15] des schwarzen Senfs sowie mit dem Gluconasturtiin[16] aus Brunnenkresse (beides ebenfalls Cruciferen) und wird fermentativ in Cheirolin[17] (II), *d*-Glucose und $KHSO_4$ gespalten.

$$\underset{\text{I Smp. } 158-160^\circ}{CH_3SO_2\text{–}(CH_2)_3\text{–}N{=}C(OSO_2OK)\text{–}S\text{–}C_6H_{11}O_5} \rightarrow \underset{\text{II Smp. } 47-48^\circ}{CH_3SO_2\text{–}(CH_2)_3\text{–}N{=}C{=}S} + C_6H_{12}O_6 + KHSO_4$$

Nach *Wagner*[6] soll das Cheirolin (II) antipyretisch und wie Chinin wirken. Über die biologische Wirksamkeit des Glucocheirolins (I) scheint nichts bekannt zu sein.

Die Fette aus Goldlacksamen sind von *Matthes und Boltze*[18] sowie von *Hilditch und Jones*[19] untersucht worden, das ätherische Öl der Blüten von *Kummert*[20]. Als Farbstoffe enthalten die Blüten Quercetin und Isorhamnetin[21].

[12] *R. Berger*, Heil- und Gewürzpflanzen, Bd. *8*, S. 1 (1925).
[13] *W. Schneider*, Liebigs Annalen *375*, 207 (1910), isolierte Cheirolin (II) auch aus Erysimum arcansanum.
[14] *E. Schneider, K. Kaufmann*, Liebigs Annalen *392*, 1 (1912), isolierten aus Erysimum perowskianum ein dem Cheirolin homologes krist. Senföl vom Smp. 59–60°, das sie Erysolin nannten. Es besitzt die Formel $CH_3 \cdot SO_2\text{–}(CH_2)_4\text{–}N{=}C{=}S$.
[15] *J. Gadamer*, Arch. Pharmaz. *235*, 44 (1897).
[16] *J. Gadamer*, Arch. Pharmaz. *237*, 507 (1899).
[17] Der Name stammt von *Ph. Wagner*[6].
[18] *H. Matthes, W. Boltze*, Arch. Pharmaz. *250*, 211 (1912).
[19] *T. P. Hilditch, E. E. Jones*, Journ. Soc. chem. Ind. *46*, 467 (1927).
[20] *E. Kummert*, Chem.-Ztg. *35*, 667 (1911).
[21] *A. G. Perkin, J. J. Hummel*, Journ. chem. Soc. London *69*, 1566 (1896).

Es war der Zweck der vorliegenden Untersuchung, festzustellen, ob sich aus Goldlacksamen ein herzwirksames Glykosid in reiner Form isolieren läßt. Als Ausgangsmaterial dienten Samen (Mischung einfachblühender Gartenvarietäten), die wir von einer Basler Samenhandlung bezogen hatten. Sie wurden zunächst grob gemahlen, mit Petroläther weitgehend entfettet, hierauf fein gemahlen und vollständig entfettet. Das entfettete Samenpulver wurde mehrmals mit 66proz. Methanol[22] bei 18° extrahiert, bis der Rückstand nicht mehr bitter schmeckte. Der stark bittere Auszug wurde im Vakuum vom Methanol befreit. Dann wurden Reste ätherlöslicher Stoffe durch Ausschütteln und Farbstoffe und gerbstoffartige Verbindungen in üblicher Weise durch Fällung mit Bleihydroxyd entfernt. Der verbleibenden wässerigen Lösung ließen sich die bitter schmeckenden Stoffe mit Chloroform nicht entziehen, wohl aber weitgehend durch oftmaliges Ausschütteln mit Chloroform-Alkohol (2 : 1)[23]. Die extrahierte wässerige Phase war kaum mehr bitter, und im Froschtest[24] nur noch schwach wirksam. (Wegen des hohen Trockenrückstandes war die Totalaktivität dieses Teils trotzdem erheblich, siehe Tabelle.) Dagegen erwies sich der Chloroform-Alkohol-Extrakt als sehr stark wirksam. Aus 4,45 kg entfettetem Samenpulver (= 6 kg frische Samen) wurden 65 g dieses amorphen, hellgelben Extraktes erhalten[25]. Er zeigte am Frosch eine Wirksamkeit von ca. 700 – 1000 FD/mg[26]. Am isolierten Froschherz wurde für systolischen Stillstand eine Konzentration von 5.10^{-6} benötigt. Die letale Dosis für die Katze (Infusionsmethode nach *Hatcher*) war dagegen mit 0,74 mg/kg noch nicht erreicht[27]. In der folgenden Tabelle sind die Ausbeuten der Rohextrakte sowie ihre Wirksamkeiten in verschiedenen Testmethoden zusammengestellt[24]. Zum Vergleich sind auch die entsprechenden Werte für Convallatoxin, krist. Cheirotoxin (III) (siehe unten), Cymarin sowie Ouabain (g-Strophanthin) aufgeführt[28].

[22] Leider wurde erst nachträglich festgestellt, daß wasserfreies Methanol bei 18°, sowie bei 60° einen vor allem im Froschtest wirksameren Extrakt liefert. Möglicherweise finden durch die Anwesenheit von Wasser vorzeitig Spaltungen oder Umlagerungen statt.

[23] Vergl. *A. Stoll, J. Renz, W. Kreis*, Helv. Chim. Acta *20*, 1484 (1937).

[24] Diese und alle folgenden biologischen Prüfungen wurden in den Laboratorien der Ciba AG., Basel, unter der Leitung von Herrn Prof. *R. Meier* ausgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

[25] Nur das erste kg frischer Samen haben wir selbst extrahiert. Die Extraktion der weiteren 5 kg wurde bis zu dieser Stufe genau nach demselben Verfahren von der Ciba AG., Basel, durchgeführt, die uns den fertigen Extrakt zur Verfügung stellte. Es sei auch hier für diese Hilfe besonders gedankt. Die verwendeten Samen entstammten zwei verschiedenen Sendungen. Die 3 kg der ersten Sendung gaben bei der weiteren Verarbeitung etwas andere Resultate wie die zweite Sendung (siehe unten).

[26] Wegen ungünstiger Jahreszeit ist dieser Wert nur als grobe Annäherung zu betrachten.

[27] Frau Dr. *B. Schär und* Herr Prof. *R. Meier* schrieben uns dazu: «Die exakte Grenzdosis für die Katze wurde nicht festgelegt, sie liegt bestimmt höher als 0,74 mg/kg. Das Rohpräparat ist wahrscheinlich für die Auswertung an der Katze überhaupt ungeeignet, da die Tiere nicht unter dem für Digitalisstoffe typischen Bild ad exitum gekommen sind.»

[28] Vergl. auch *H. Weese*, Digitalis, Leipzig 1936.

	Ausbeute in g Trockenrückstand per kg frischer Goldlacksamen	Froschdosen FD/mg	Ausbeute in FD per mg frischer Goldlacksamen*	Isoliertes Froschherz, systol. Herzstillstand bei (Konzentration)	Katze, letale Dosis (Infusionsmethode nach Hatcher) mg/kg
Chloroform-Alkohol-Extrakt .	10,8 g	700—1000[26]	7,55—10,8	5.10^{-6}	> 0,74
Wässeriger Rückstand . . .	128 g	ca. 50[26]	6,4	5.10^{-5}	—
Convallatoxin . .	—	3000—3500[29]	—	$0{,}2.10^{-6}$	0,079 ± 0,0031[30]
Cheirotoxin (III) .	0,185 g	2000—3000	0,37—0,555	$0{,}5.10^{-6}$	0,108
Cymarin	—	1600[29]	—	1.10^{-6}	0,110 ± 0,0037[30, 31]
Ouabain	—	2000—2500[29]	—	5.10^{-6}	0,116 ± 0,0027[30]

* $CHCl_3$-Alkohol-Extrakt sowie wässeriger Rückstand gaben zusammen ca. 14 – 17,2 FD per mg frischer Samen. *Jaretzky und Wilcke*[11] hatten ca. 10 FD per mg frischer Samen gefunden. Bei der Ungenauigkeit der Froschmethode ist es fraglich, ob dieser relativ geringe Unterschied reell ist.

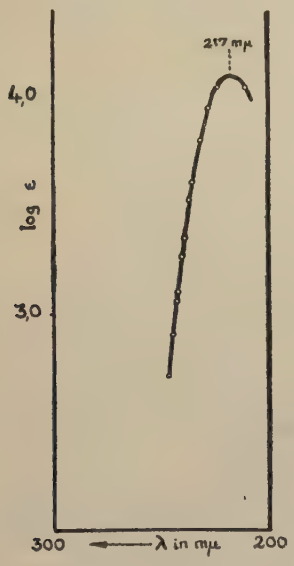
Der rohe Extrakt war somit am ganzen Frosch nur etwa dreimal weniger wirksam als reines Cheirotoxin, am isolierten Froschherz sowie im Katzentest dagegen etwa zehnmal schwächer als dieses. Da Versuche zur direkten Isolierung von Kristallen keinen Erfolg hatten, wurde der ganze Chloroform-Alkohol-Extrakt azetyliert und das Gemisch der Azetate chromatographisch mit Hilfe von alkalifreiem Al_2O_3[32] getrennt. Es gelang so, sieben verschiedene, gut kristallisierte Azetate zu isolieren, die wir als Azetate A – G bezeichnen. Wie sich zeigte, stellte das Azetat B ein herzwirksames Glykosid dar, für das wir den Namen *Cheirotoxin* vorschlagen und das zuerst besprochen werden soll. Die sechs Nebenprodukte, die nicht eingehend untersucht wurden, werden am Schluß erwähnt.

Cheirotoxin (III).

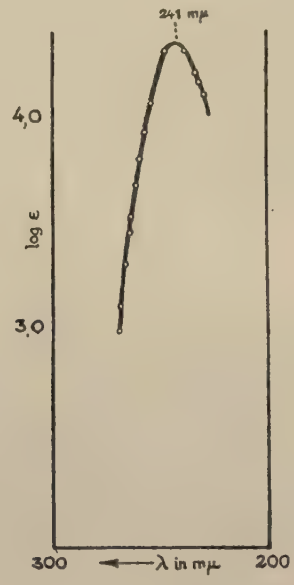
Cheirotoxin-azetat (= Azetat B) (IV) kristallisiert aus Azeton-Äther, besser aus Methanol, in Nadeln vom Smp. 219 – 221°; $[\alpha]_D^{12} = -1{,}3° \pm 2°$

[29] *W. Karrer*, Helv. *12*, 506 (1929).
[30] *K. K. Chen, A. L. Chen, R. C. Anderson*, J. Amer. Pharmac. Assoc. *25*, 579 (1936).
[31] *K. K. Chen, C. J. Bliß, E. R. Robbins*, J. Pharmacol. *74*, 223 (1942).
[32] Vergl. *J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. Chim. Acta *27*, 1287, und zw. S. 1292 Fußnote 2.

(c = 1,494 in Chloroform). Es erwies sich frei von Stickstoff, Schwefel, Halogen und Methoxyl. Auf Grund der Abbauresultate dürfte es sich um ein Hexaazetat handeln, für das vor allem die Formeln $C_{46}H_{62}O_{21}$ (950,50) oder $C_{47}H_{64}O_{21}$ (964,98) in Betracht kommen[33]. Beide stimmen gut mit den Werten der C,H-Bestimmung, Verseifungszahl, Mol.-Gew.-Bestimmung und den Abbauresultaten überein. Der Stoff zeigte im Ultraviolett selektive Absorption (siehe Kurve) mit einem Maximum bei ca. 217 mμ und logε



Cheirotoxin-azetat
ber. f. Mol.-Gew. 965



Azetat E
ber. f. Mol.-Gew. 714

= ca. 4,1[34] (ber. auf Mol.-Gew. = 965), wie sie für α, β-ungesättigte Laktone des Digitalis- und Strophanthus-Typs charakteristisch ist[35]. Dementsprechend gab er auch eine positive (rote) *Legal*-Reaktion[36]. Da die Ausbeute an reinen Kristallen sehr gering war (1,5 g aus 6 kg frischen Samen), mußten die Untersuchungen mit recht bescheidenen Mengen durchgeführt werden, woraus sich gewisse Unsicherheiten ergaben. Immerhin konnte die Konstitution dank günstiger Umstände bis auf die Natur eines Zuckerbestandteils aufgeklärt werden.

[33] Ein Heptaazetat $C_{49}H_{66}O_{23}$ ist nicht mit Sicherheit auszuschließen.

[34] Wir danken Herrn P.-D. Dr. *H. Mohler*, Zürich, für die Ausführung dieser Messung.

[35] Vergl. *W. D. Paist, E. R. Blout, F. C. Uhle, R. C. Elderfield*, Journ. Org. Chem. *6*, 273 (1941); *L. Ruzicka, P. A. Plattner, A. Fürst*, Helv. Chim. Acta *24*, 716 (1941). Weitere Literatur siehe *A. Katz, T. Reichstein*, Pharmac. Acta Helv. *19*, 231 (1944).

[36] Vergl. *W. A. Jacobs, A. Hoffmann, F. L. Gustus*, Journ. Biol. Chem. *70*, 1 (1926).

Zunächst wurde festgestellt, daß Cheirotoxin-azetat (IV) beim Kochen mit Hydroxylamin-azetat ein Oxim (IX) und bei der Behandlung mit CrO_3 in Eisessig bei 18° leicht eine Säure («Cheirotoxin-azetat-säure») (VII) liefert, die als Dihydrat $C_{47}H_{64}O_{22} \cdot 2\,H_2O$ oder $C_{46}H_{62}O_{22} \cdot 2\,H_2O$ vom Smp. 157° kristallisiert und durch einen krist. Methylester (VIII) $C_{48}H_{66}O_{22}$ oder $C_{47}H_{64}O_{22}$ vom Smp. 215° charakterisiert wurde. Damit ist die Anwesenheit einer Aldehydgruppe nachgewiesen.

Durch milde Verseifung des Cheirotoxin-azetats (IV) mit $KHCO_3$ in wässerigem Methanol[37] wurde das freie Cheirotoxin (III) erhalten, das aus wenig Wasser als Trihydrat kristallisierte. Cheirotoxin-trihydrat bildet ein feines Kristallpulver vom Smp. 210 – 211°. Es läßt sich im Hochvakuum bei 100° entwässern und zeigt dann $[\alpha]_D^{12} = -17{,}2° \pm 2°$ (c = 1,862 in Methanol). Die Analysen sowohl des Trihydrats wie des wasserfreien Produktes stimmen am besten auf die Formel $C_{35}H_{52}O_{15}$, sind aber auch mit $C_{34}H_{50}O_{15}$ verträglich[38]. Das Glykosid ist in heißem Wasser leicht löslich und schmeckt äußerst bitter. Am isolierten Froschherzen wurde gefunden[39]:

minimale wirksame Konzentration: 1.10^{-7}
maximal wirksame Konzentration
(Stillstand in Systole): 5.10^{-7}

Weiter wurde ermittelt, daß es ca. 2000 – 3000 FD/mg enthält und daß die letale Dosis für die Katze (Infusionsmethode nach *Hatcher*) ca. 0,108 mg/kg beträgt. Ferner hatte Herr Dr. *K. K. Chen* in Indianapolis die Freundlichkeit, unabhängig die Wirksamkeit des Cheirotoxins an Frosch und Katze zu prüfen. Er übermittelte uns folgende Werte, wobei im Froschversuch Cymarin als Standard gleichzeitig geprüft wurde[40].

	Frosch, mittlere systol. Dosis mg/kg	Katze, geometrisches Mittel der letalen Dosis mg/kg
Cheirotoxin (III) . . .	0,41	0,1185
Cymarin	0,88	0,1101[30, 31]

Cheirotoxin ist demnach für den Frosch giftiger, für die Katze jedoch fast gleich oder eher etwas weniger giftig als Cymarin.

Die *Legal*'sche Probe war wie beim Azetat (IV) positiv (rot), die *Keller-Kiliani*-Reaktion[41] dagegen negativ. Letzteres ließ darauf schließen,

[37] Vergl. *T. Reichstein, J. von Euw*, Helv. Chim. Acta *21*, 1181 (1938).

[38] Die Verbrennungswerte passen jedoch nicht auf $C_{35}H_{52}O_{16}$. Dies wäre die Formel eines Strophanthidin-dihexosids.

[39] Im Juli 1944, also zu einer sehr ungünstigen Jahreszeit bestimmt; daher können diese Werte nur als Annäherungen gelten.

[40] Wir danken Herrn Dr. *K. K. Chen* für diese Auswertung. Seine Versuche wird er unabhängig publizieren.

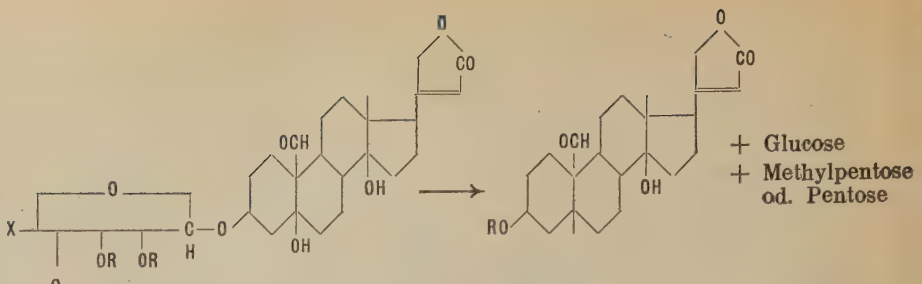
[41] *C. C. Keller*, Ber. dtsch. chem. Ges. *5*, 277 (1895); *H. Kiliani*, Arch. Pharmaz. *234*, 273 (1896); *251*, 567 (1913).

daß kein Derivat eines 2-Desoxyzuckers vorlag, daß es sich somit um ein schwer spaltbares Glykosid handelte. Wegen der beschränkten zur Verfügung stehenden Materialmenge wurden daher keine Spaltungsversuche mit wässerig-alkoholischer Säure vorgenommen, sondern die Hydrolyse direkt nach der von *Mannich und Siewert*[42] für die Spaltung von Ouabain ausgearbeiteten Methode (HCl in Azeton) durchgeführt, die sich auch für die Zerlegung anderer schwer spaltbarer Glykoside gut bewährt hat[43, 44]. Auf diese Weise konnte das dem Cheirotoxin (III) zugrunde liegende Aglykon sehr glatt erhalten und eindeutig als Strophanthidin (V) identifiziert werden, wobei zur weiteren Charakterisierung das bekannte Azetat (VI) diente. Für die Abklärung der Konstitution des Cheirotoxins (III) war somit nur der Zuckeranteil zu bestimmen. Schon nach seinen Löslichkeitseigenschaften war zu erwarten, daß Cheirotoxin (III) ein Diglykosid darstellt, und nach Identifizierung des Genins ergab sich dies auch eindeutig aus den Analysenwerten.

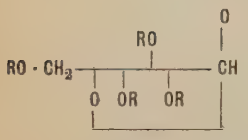
Der nach Abtrennung des Aglykons bei der oben erwähnten Hydrolyse erhaltene wasserlösliche Zuckersirup reduzierte *Fehling*'sche Lösung stark. Kristalle konnten daraus auch nach Impfen mit *d*-Glucose, *l*-Rhamnose und *d*-Galactose nicht erhalten werden. Auch versuchten wir vergeblich, ein krist. *β*-Naphthyl-hydrazon zu bereiten. Einzig beim Erhitzen mit Phenylhydrazin in wässeriger Essigsäure konnte ein reiner Stoff gewonnen werden, der sich nach Mischprobe und Analyse als *d*-Glucosazon erwies. Einer der zwei im Cheirotoxin enthaltenen Zucker dürfte daher wohl *d*-Glucose sein, obwohl dies durch die Isolierung des Osazons allein nicht eindeutig bewiesen ist. Aus den Mutterlaugen des *d*-Glucosazons wurden noch erhebliche Mengen niedriger, aber unscharf schmelzender Kristalle erhalten, aus denen sich jedoch kein einheitliches Material mehr isolieren ließ. Cheirotoxin (III) stellt somit ein Diglykosid des Strophanthidins (V) dar, an dessen Aufbau außer einer Hexose (wahrscheinlich *d*-Glucose) voraussichtlich noch ein anderer Zucker beteiligt ist. Die Analysenwerte des Glykosids und seines Azetats sprechen am ehesten dafür, daß dieser zweite Zucker eine Methylpentose oder eine Pentose darstellt. Weniger wahrscheinlich ist eine zweite Hexose. Die Abklärung dieser Frage dürfte mit etwas mehr Material leicht gelingen.

Die Ausbeute an reinem Cheirotoxin-azetat betrug nur 1,5 g (= 1,11 g freies Glykosid) aus 65 g rohem Chloroform-Alkohol-Extrakt (entsprechend 6 kg frischen Samen), während nach der biologischen Auswertung (unter Zugrundelegung der Wirksamkeiten am isolierten Froschherzen und der ungefähren Letaldosen für die Katze) total ca. 6,5 g freies Glykosid darin enthalten sein sollte, wenn die ganze Wirkung nur durch das Cheirotoxin bedingt wäre. Dieser Unterschied ist zu groß, als daß man ihn nur Versuchsfehlern und ungenügender Trennung zuschreiben könnte. Wir glauben daher, daß die Goldlacksamen außer Cheirotoxin noch einen anderen herzwirksamen Stoff enthalten, dessen Azetat bisher nicht kristallisierte.

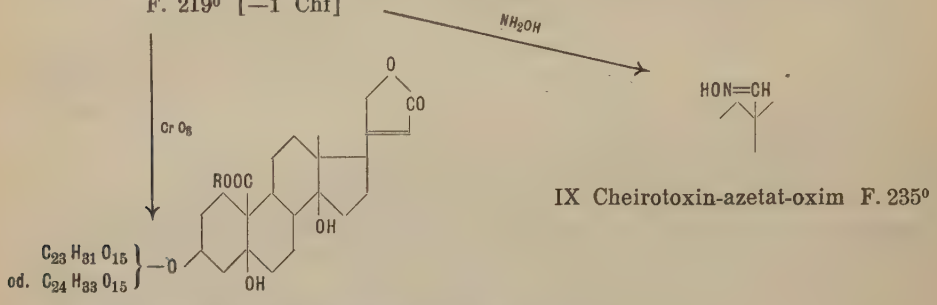
[42] *C. Mannich, G. Siewert*, Ber. dtsch. chem. Ges. *75*, 737 (1942).
[43] *T. Reichstein, A. Katz*, Pharmac. Acta Helv. *18*, 521 (1943).
[44] *A. Katz, T. Reichstein*, Helv. Chim. Acta *28*, 476 (1945).



V (R = H) Strophanthidin F. 139° [+ 41 Al][45]
VI (R = Az) Strophanthidin-azetat
F. 247° [+ 56 Chf][45, 46]



III (R = H) Cheirotoxin F. 210° [—17 Me]
IV (R = Az) Cheirotoxin-azetat
F. 219° [—1 Chf]



IX Cheirotoxin-azetat-oxim F. 235°

VII (R = H) Cheirotoxin-azetat-säure F. 157°
VIII (R = CH_3) Cheirotoxin-azetat-säure-methylester
F. 215° [+ 10 Chf]

Az = CH_3CO– ; X = H für Pentose, CH_3 für Methylpentose. Der Teil der Formel, der diesen Zucker umfaßt, ist unsicher. Die Anordnung und Verknüpfung der zwei Zucker ist willkürlich formuliert, ebenso die räumliche Stellung der HO-Gruppen im Aglykon. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Me = Methanol, Chf = Chloroform, Al = Alkohol.

Die Spaltungsgleichung lautet:

$$\underset{\substack{C_{35}H_{52}O_{15}\\ \text{od. } C_{34}H_{50}O_{15}}}{\text{Cheirotoxin}} \xrightarrow{2\,H_2O} \underset{C_{23}H_{32}O_6}{\text{Strophanthidin}} + \underset{C_6H_{12}O_6}{\text{Hexose}} + \underset{\substack{C_6H_{12}O_5\\ \text{od. Pentose}\\ C_5H_{10}O_5}}{\text{Methylpentose}}$$

Nebenprodukte.

Azetat A. Dieses ausgezeichnet kristallisierende Azetat wurde in ca. 0,058 % Ausbeute (auf ganze Samen berechnet) erhalten, also in größter Menge von allen isolierten Stoffen. Aus Azeton-Äther oder aus Methanol

[45] *T. Reichstein, H. Rosenmund*, Pharmac. Acta Helv. *15*, 150 (1940).
[46] *T. Reichstein, A. Katz*, Pharmac. Acta Helv. *18*, 521 (1943).

schied es sich in farblosen Nadeln ab, die bei 245 – 247° schmolzen und in Chloroform keine merkbare optische Drehung zeigten. Sie waren stickstoff-, schwefel-, halogen- und methoxylfrei und gaben bei der *Legal*'schen Probe[36] eine orange Färbung. Im Ultraviolett zeigten sie jedoch in alkoholischer Lösung nicht die für konjugierte Doppelbindungen charakteristische selektive Absorption. Mit Tetranitromethan wurde keine Gelbfärbung erhalten, hingegen ließ sich durch quantitative Hydrierung mit PtO_2 eine Doppelbindung (ber. auf Mol.-Gew. = 1109,2) nachweisen. Von CrO_3 in Eisessig wurde Azetat A nach vierstündigem Stehen bei 18° nicht angegriffen.

Vorsichtige Verseifung des Azetats A mit $KHCO_3$ in wässerigem Methanol bei 18° lieferte die azetylfreie Verbindung, die sowohl in Wasser wie in den meisten organischen Lösungsmitteln schwer löslich war. Sie kristallisierte aus Alkohol-Chloroform in Nadeln von Smp. 284 – 285°, gab bei der Azetylierung wieder Azetat A und erwies sich ebenfalls als Lakton. Wir nennen sie daher Lakton A. Beim Erhitzen von Lakton A mit KOH in wässerigem Alkohol entstand das wasserlösliche K-Salz einer Säure. Nach Ansäuern dieser Lösung schied sich ein Neutralstoff vom Smp. 248 – 251° ab, der nach den Analysenresultaten mit Lakton A isomer ist und den wir Isolakton A nennen. Er gab bei der Azetylierung ein Azetat vom Smp. 278 – 279°, das mit Azetat A ebenfalls isomer war.

Lakton A wirkt auf Organe mit glatter Muskulatur in der Art der Herzglykoside, jedoch relativ schwach, und am isolierten Froschherzen führen Konzentrationen bis 2.10^{-4} noch nicht zu systolischem Stillstand. Ebenso ist die Froschtoxizität gering, nämlich über 25 mg/kg; Lakton A enthält somit weniger als 40 FD/mg. Es ließ sich zeigen, daß Lakton A ebenfalls ein Glykosid ist. Ein Spaltversuch nach *Mannich's* HCl-Azeton-Methode[42] verlief allerdings ergebnislos, da sich das Lakton auch nach dreiwöchigem Schütteln nicht löste. Nach mehrstündigem Kochen mit 1proz. wässerig-alkoholischer H_2SO_4 wurde jedoch ein in Wasser schwer lösliches Spaltstück isoliert, dessen Analysenwerte am besten auf die Formel $C_{29}H_{42}O_4$ passen, aber auch mit $C_{30}H_{44}O_4$ verträglich sind[47]. Wie sich aus der Spaltungsgleichung (siehe unten) ergibt, handelt es sich offenbar um ein Dianhydro-Derivat des hypothetischen nativen Aglykons $C_{29}H_{46}O_6$. Da das Azetat A offenbar mindestens eine Doppelbindung enthält, sollte das Dianhydro-genin mindestens drei Doppelbindungen enthalten. Durch quantitative Hydrierung ließen sich jedoch nur zwei nachweisen. Die Mutterlauge des Dianhydro-genins gab bei der Azetylierung ein Azetat $C_{31}H_{44}O_5$ vom Smp. 138 – 140°, offenbar das Monoazetat des Dianhydro-genins. Daneben wurde noch ein zweites Azetat vom Smp. 141 – 143° erhalten, das viel mehr Sauerstoff enthielt und wahrscheinlich noch zuckerhaltig war.

Die bei der Hydrolyse neben dem Dianhydro-genin erhaltenen leicht wasserlöslichen Anteile stellten einen Zuckersirup dar, der *Fehling*'sche Lösung stark reduzierte, aus dem sich aber direkt keine Kristalle isolieren ließen. Nach Erhitzen einer Probe mit Phenylhydrazin-azetat wurde ein

[47] Die C, H-Werte würden auch auf die Formel $C_{23}H_{32}O_3$ stimmen, doch ergeben sich dann größere Differenzen für die Mol.-Gew.-Bestimmung, sowie für alle Analysenwerte des Laktons A und des Azetats A.

Osazon-Gemisch erhalten, aus dem wieder reines *d*-Glucosazon abgeschieden werden konnte. In einer zweiten Probe wurde die Glucose durch Gärung vollständig entfernt. Es blieb ein stark reduzierender Zuckersirup zurück, der noch etwa halb so viel wog wie die zur Gärung angesetzte Probe. Beim Erhitzen des glucosefreien Sirups mit Phenylhydrazin-azetat entstand ein relativ leicht lösliches Osazon, das nach Umkristallisieren aus Alkohol-Äther bei 150 – 153° schmolz und eine spez. Drehung von $[\alpha]_{\lambda 461}^{20} = -25{,}7° \pm 6°$ (c = 0,35 in absol. Alkohol) zeigte. Diese Werte schienen auf *d*-Xylosazon zu deuten, doch zeigte die Mischprobe mit authentischem Material eine geringe, aber wahrscheinlich reelle Depression, und vor allem wurde bei der Mischprobe mit *l*-Xylosazon, wenn auch keine merkliche Depression, so doch auch nicht die für die Mischung von *d*- und *l*-Xylosazon typische Schmelzpunktserhöhung erhalten. Ferner gab die Analyse C,H-Werte, die genau auf ein Hexosazon passen. Da alle Osazone der normalen Hexosen bekannt sind und durchwegs höher schmelzen als 153°, muß es sich bei unserem Produkt, vorausgesetzt, daß es rein war, wahrscheinlich um das Osazon einer unbekannten Hexose (mit verzweigter Kette?) gehandelt haben.

Für die Zusammensetzung des Laktons A ergibt sich folgendes: Verbrennungswerte, Titrationen, Molekulargewichtsbestimmungen und Abbauresultate stimmen am besten mit der Annahme überein, daß ein Aglykon $C_{29}H_{46}O_6$ mit zwei Hexosen verknüpft ist. Lakton A würde dann die Formel $C_{41}H_{66}O_{16}$ besitzen. Die Spaltungsgleichung würde lauten:

$$\underset{C_{41}H_{66}O_{16}}{\text{Lakton A}} \longrightarrow \underset{C_{29}H_{42}O_4}{\text{Dianhydro-genin}} + \underset{C_6H_{12}O_6}{\text{Glucose}} + \underset{C_6H_{12}O_6}{\text{Hexose}}$$

Azetat A wäre dann entweder ein Hexaazetat $C_{53}H_{78}O_{22}$ oder ein Heptaazetat $C_{55}H_{80}O_{23}$. Die Analysen stimmen mit beiden Formeln befriedigend überein. Wenn Lakton A eine Hexose mit verzweigter Kette enthält, so wäre die Bildung eines Hexaazetats gut erklärlich.

Das hypothetische Aglykon $C_{29}H_{46}O_6$ weist gegenüber einem gesättigten Kohlenwasserstoff $C_{29}H_{60}$ ein Manko von 14 H-Atomen auf. Wenn man annimmt, daß es eine Doppelbindung enthält (Hydrierungsergebnisse bei Lakton A) und zwei H-Atome für die CO-Gruppe abgehen, so sollte es fünf Ringe enthalten. Demnach könnte es sich um ein Phytosterin-Derivat mit zusätzlichem Laktonring handeln. Die Formel $C_{30}H_{48}O_6$ würde eher für ein Triterpen-Derivat sprechen, ist aber mit den Analysenwerten schlechter vereinbar.

Azetat C. Dieses Azetat konnte nur bei der Aufarbeitung der ersten Samensendung in geringer Menge gewonnen werden. Bei der zweiten Charge, die aus einer neuen Samenlieferung stammte, erhielten wir es nicht mehr, was aber auch durch Zufälle verursacht sein kann. Es war ein leicht gelbliches Kristallpulver vom Smp. 131 – 132° und erwies sich als N- und S-haltig. Wir vermuten, daß ein Derivat des Cheirolins vorlag und daß bei der Verarbeitung dieser Charge das Senföl aus irgendeinem Grunde erst in den Chloroform-Alkohol-Extrakt gelangte und eine nachträgliche Umformung erlitt. Die Analysen von Azetat C stimmten am

Absorption mit einem Maximum bei ca. 217 mμ und $\log \varepsilon$ = ca. 4,10 (ber. für Mol.-Gew. 965) (Kurve vgl. theoret. Teil). Die *Legal*-Reaktion (in abs. Pyridin) ist tiefrot, die Tetranitromethan-Probe negativ.

Cheirotoxin (Lakton B) (III).

0,7 g Cheirotoxin-azetat vom Smp. 215–220° wurden in 175 cm³ Methanol gelöst, mit der kalt bereiteten Lösung von 0,7 g $KHCO_3$ in 35 cm³ Wasser versetzt und die klare Mischung zehn Tage bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 20° Badtemperatur auf 10 cm³ eingeengt und zwölfmal mit je 30 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach einen zweiten Scheidetrichter mit 3 cm³ Wasser, wo sie nochmals geschüttelt wurden. Nach Trocknung über Na_2SO_4 wurde im Vakuum eingedampft, wobei 0,55 g rohes Cheirotoxin als gelblicher Schaum resultierten. Nach Aufnehmen in wenig Wasser wurden Chloroformreste im Vakuum entfernt, worauf bald Kristallisation in feinen Blättchen eintrat, die bei 0° möglichst vervollständigt wurde. Die abgenutschten und mit wenig Eiswasser gewaschenen Kristalle wurden über $CaCl_2$ getrocknet und schmolzen bei 200–206°. Zur Reinigung wurde in wenig abs. Alkohol gelöst, unter Reiben mit viel Äther gefällt, abgenutscht und mit viel Äther gewaschen. Das Pulver wurde nun in Methanol gelöst, die leicht trübe Lösung durch eine Spur Kohle filtriert, die nunmehr klare Lösung mit 1 cm³ Wasser versetzt und im Vakuum auf 1,5 cm³ eingeengt. Beim Impfen trat bald Kristallisation ein, die durch Stehen bei 0° möglichst vervollständigt wurde. Das abgenutschte und mit wenig Eiswasser gewaschene Pulver wurde über $CaCl_2$ ohne Vakuum getrocknet. Ausbeute 320 mg reines Material vom Smp. 210–211° sowie ca. 100 mg etwas weniger reine Kristalle aus Mutterlaugen. Zur Analyse wurde nochmals wie oben aus Methanol-Wasser durch Einengen umkristallisiert und über $CaCl_2$ ohne Vakuum bis zur Gewichtskonstanz (sechs Tage) getrocknet, worauf ein Trihydrat vorlag. Der Smp. war unverändert. Die spez. Drehung einer 2 Std. im Hochvakuum bei 100° getrockneten Probe betrug $[\alpha]_D^{12} = -17{,}2° \pm 2°$ (c = 1,862 in Methanol).

18,762 mg Subst. (wasserfrei) zu 1,0094 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{12} = -0{,}32° \pm 0{,}02°$.

20,188 mg Subst. (Trihydrat) 2 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet gaben 1,426 mg (= 7,06 %) Gew.-Verlust (eigene Bestimmung).

3,600 mg Subst. (Trihydrat) gaben 7,216 mg CO_2 und 2,453 mg H_2O.

3,932 mg Subst. (Trihydrat) 48 Std. im Hochvakuum über P_2O_5 bei 100° getrocknet gaben 0,304 mg (= 7,75 %) Gew.-Verlust.

3,628 mg Subst. (wasserfrei) gaben 7,839 mg CO_2 und 2,433 mg H_2O.

17,124 mg Subst. (Trihydrat) verbr. 0,258 cm³ 0,1-n-KOH (Laktontitration)[51].

[51] Ausgeführt wie bei [49], jedoch 30 Std. gekocht.

$C_{35}H_{52}O_{15} \cdot 3\,H_2O$ (766,81) Ber. C 54,82 H 7,62 H_2O 7,06 % Äquiv.-Gew. 766,81
$C_{34}H_{50}O_{15} \cdot 3\,H_2O$ (752,74) Ber. C 54,24 H 7,50 H_2O 7,18% Äquiv.-Gew. 752,74
– Gef. C 54,70 H 7,62 H_2O 7,06% Äquiv.-Gew. 663,72
7,75 %

$C_{35}H_{52}O_{15}$ (712,77) Ber. C 58,97 H 7,18 %
$C_{34}H_{50}O_{15}$ (698,74) Ber. C 58,44 H 7,21 %
Gef. C 58,96 H 7,50 %

Cheirotoxin ist in Alkohol, Methanol und heißem Wasser sehr leicht, in kaltem Wasser mäßig, in Chloroform und in Azeton schwer, in Benzol und in Äther praktisch unlöslich. Die wässerige Lösung schmeckt intensiv bitter. Beim Eintragen von wenig Cheirotoxin in konz. Schwefelsäure entsteht im ersten Moment eine rosa Färbung, die sehr rasch in Braun, innerhalb 2 Std. allmählich über Gelb in Grün und nach 16 Std. (offen) in Blau übergeht. Die *Legal*-Reaktion in Pyridin ist rot. Bei der biologischen Prüfung wurden folgende Resultate erhalten (Rapport 5. Dez. 1944)[24]:

Froschtoxizität: 0,3 – 0,5 mg/kg (1 mg = 2000 – 3000 FD).
Letaldosis an der Katze (Infusionsmethode nach *Hatcher*): 0,108 mg/kg.
Isoliertes Froschherz: Minimal wirksame Konzentration 10^{-7}, Stillstand in Systole 5.10^{-7}.
Isolierter Dünndarm des Kaninchens: Tonisierung beginnend mit 10^{-8}, spastische Kontraktur mit 10^{-6}.
Isolierter Uterus des virginellen Meerschweinchens: Leicht auswaschbare Tonisierung beginnend mit 10^{-8}.

Um auch über die Kumulierungsfähigkeit einen Anhaltspunkt zu bekommen, wurden an der Katze 24 Std. vor der Bestimmung der Toxizität ⅓ Letaldosis (= 0,035 mg/kg) intravenös verabreicht[52]. Es wurde damit die Auffülldosis festgestellt. Dabei zeigte sich, daß eine leichte Kumulierung eintritt, denn die Letaldosis war jetzt statt 0,108 mg/kg auf 0,087 mg/kg herabgesetzt. Die Gesamtdosis betrug 0,122 mg/kg. Es waren somit noch ca. 0,021 mg/kg gespeichert. Weitere biolog. Versuche siehe im theoretischen Teil.

Cheirotoxin-azetat-oxim (IX).

15 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 30 mg Natriumazetat-trihydrat wurden in 1 Tropfen Wasser gelöst, mit der Lösung von 30 mg Cheirotoxin-azetat (IV) in 0,5 cm³ abs. Alkohol versetzt und 1½ Std. unter Rückfluß gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, mit 0,5 cm³ Wasser versetzt und dreimal mit 3 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Chloroformauszüge wurden eingedampft. Umkristallisieren aus Methanol-Äther, dann aus Azeton-Äther gab 10 mg farbloses Kristallpulver vom Smp. 235 – 238°.

3,830 mg Subst. gaben 0,074 cm³ N_2 (20°; 716 mm).
$C_{46}H_{63}O_{21}N$ (965,97) Ber. N 1,45 %
$C_{47}H_{65}O_{21}N$ (980,00) Ber. N 1,43 %
Gef. N 2,12 %

[52] Im Gegensatz zu Digitoxin und Somalin, mit denen früher gleiche Versuche durchgeführt wurden, vertrugen die Katzen ⅓ Letaldosis ohne irgendwelche Nebenwirkungen.

Cheirotoxin-azetat-säure (VII).

30 mg Cheirotoxin-azetat (IV) vom Smp. 217 – 220° wurden in 0,5 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,27 cm³ 2proz. CrO_3-Eisessig-Lösung versetzt und 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Es ließ sich hierauf noch etwas unverbrauchtes CrO_3 nachweisen. Dann wurde im Vakuum bei 20° Badtemperatur eingedampft, mit 5 Tropfen Wasser versetzt und mehrmals mit je 2 cm³ Chloroform-Äther ausgeschüttelt. Den zweimal mit je 2 cm³ 2-n-Schwefelsäure gewaschenen Chloroform-Äther-Lösungen wurden die sauren Anteile durch achtmaliges Ausschütteln mit je 1 cm³ 2-n-Sodalösung entzogen. Die verbleibenden Chloroform-Ätherlösungen hinterließen nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen nur 7 mg Neutralstoffe.

Die möglichst sofort mit HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzten Sodaauszüge wurden vereinigt und mit Chloroform-Äther ausgeschüttelt. Die über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterließen beim Eindampfen im Vakuum 17 mg rohe Säure. In gleicher Weise wurden nochmals 30 mg Cheirotoxin-azetat (IV) zusammen mit den 7 mg Neutralteil oxydiert, wobei noch 23 mg rohe Säure und 12 mg Neutrales erhalten wurden. Die 40 mg rohe Säure gaben aus Azeton-Äther ca. 25 mg farbloses Kristallpulver vom Smp. 157 – 158°. Nach vierstündigem Trocknen im Hochvakuum bei 80° lag offenbar ein Dihydrat vor, doch war die Probe noch nicht ganz rein (aschehaltig).

3,706 mg Subst. gaben 7,575 mg CO_2, 2,323 mg H_2O und 0,04 mg Rückstand
$C_{47}H_{64}O_{22} \cdot 2\,H_2O$ (1017,01) Ber. C 55,50 H 6,74 %
$C_{46}H_{62}O_{22} \cdot 2\,H_2O$ (1002,99) Ber. C 55,08 H 6,63 %
Gef. C 55,78 H 7,01 %

Cheirotoxin-azetat-säure-methylester (VIII).

17 mg Cheirotoxin-azetat-säure-dihydrat (VII) vom Smp. 157 – 158° wurden in wenig Chloroform gelöst, mit 4 cm³ ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Minuten bei 18° stehen gelassen. Eindampfen und Umkristallisieren aus Azeton-Äther gab farblose Kristalle von nicht erkennbarer Form und einem Smp. von 215 – 216°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{16} = +9{,}8° \pm 2°$ ($c = 1{,}423$ in $CHCl_3$) (Trocknung bei 40°).

14,434 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0{,}14° \pm 0{,}02°$

Zur Analyse Trocknung 3 Std. bei 100° (Schweinchen).

3,442 mg Subst. gaben 7,211 mg CO_2 und 2,167 mg H_2O
3,827 mg Subst. verbr. 1,258 cm³ 0,02-n-$Na_2S_2O_3$ (*Zeisel-Vieböck*).
$C_{47}H_{64}O_{22}$ (980,98) Ber. C 57,54 H 6,58 $-OCH_3$ 3,16 %
$C_{48}H_{66}O_{22} \cdot H_2O$ (1013,02) Ber. C 56,91 H 6,77 $-OCH_3$ 3,07 %
Gef. C 57,17 H 7,04 $-OCH_3$ 3,40 %

Strophanthidin (V) und Zucker aus Cheirotoxin (III).

Hydrolyse und Isolierung des Strophanthidins.

320 mg nicht ganz reines Cheirotoxin[53] vom Smp. 207 – 210° wurden in 20 cm³ heißem Azeton gelöst und nach dem Erkalten mit 0,2 cm³ konz. Salzsäure versetzt, worauf sich sofort ein geringer klebriger Niederschlag am Boden absetzte. Das Reaktionsgemisch wurde 14 Tage bei 18° stehen gelassen, hierauf vom Bodensatz abgegossen und dieser fünfmal mit Azeton nachgewaschen. (Es blieben 40 mg unreines Lakton A ungelöst, Smp. unscharf von 150° an.) Die leicht gelblich gefärbten Azetonlösungen wurden mit 20 cm³ Wasser versetzt und im Vakuum bei 20° Badtemperatur auf 18 cm³ eingeengt, wobei ein kristalliner Niederschlag ausfiel. Nach Entnahme einer Spur Impfkristalle wurden 15 cm³ Methanol zugegeben, wobei alles in Lösung ging, und die Mischung 25 Minuten unter Rückfluß leicht gekocht. Dann wurde abgekühlt, im Vakuum bei 20° auf 15 cm³ eingeengt und mit obigen Kristallen geimpft, wobei allmählich Kristallisation eintrat, die durch dreistündiges Stehen bei 0° vervollständigt wurde. Die Kristalle wurden abgenutscht, fünfmal mit wenig Wasser, dann mit Äther gewaschen und getrocknet. Sie wogen 82 mg und schmolzen roh bei 132 – 136°.

Die saure, wässerige Mutterlauge wurde mit den Waschwässern und dem Waschäther der Kristalle vereinigt, im Vakuum vom Äther befreit und achtmal mit je 5 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. (Verarbeitung der sauren wässerigen Lösung siehe bei Zuckern.) Die mit wenig gesättigter $KHCO_3$-Lösung gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Chloroformlösung hinterließ nach dem Eindampfen im Vakuum 106 mg rohes Strophanthidin. Zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab farblose, dreieckige Blättchen vom Smp. 139 – 140° unter Aufschäumen. Authentisches Strophanthidin sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Totel wurden 188 mg rohes und daraus 50 mg ganz reines Strophanthidin (V) erhalten (280 mg Cheirotoxin-trihydrat (III) vom Mol.-Gew. 766,81 sollten theoretisch 164 mg Strophanthidin-dihydrat liefern). Die Kristalle lösten sich in konz. Schwefelsäure mit gelber Farbe und gaben eine rote *Legal*-Reaktion. Die spez. Drehung einer 2 Std. im Hochvakuum bei 80° getrockneten Probe betrug $[\alpha]_D^{17} = +40{,}4° \pm 2°$ (c = 1,734 in abs. Alkohol).

17,580 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0{,}70° \pm 0{,}02°$

Dies steht in bester Übereinstimmung mit dem früher für authentisches Strophanthidin gefundenen Wert[45]. Zur weiteren Charakterisierung diente das

Azetat (VI).

70 mg aus Cheirotoxin gewonnenes Strophanthidin (hierzu dienten Kristalle aus Mutterlaugen vom Smp. 137 – 140°) wurden in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 1 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt, 24 Std. bei 18° stehen gelassen und anschließend noch 1 Std. auf 60 – 70° erwärmt. Auf-

[53] Das Material war aus einem Azetat gewonnen, das offenbar noch Spuren Azetat A enthielt.

arbeitung wie bei «Azetylierung der Rohglykoside» gab 95 mg rohes Azetat und aus einer Spur Azeton mit Äther 75 mg Kristalle vom Smp. 236 – 243°. Sie wurden zur Reinigung in 10 cm³ abs. Benzol gelöst und an 3 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (1 : 1) sowie mit reinem Chloroform eluierbaren Anteile gaben nach sechsmaligem Umkristallisieren aus Azeton-Äther 31 mg farbloses Kristallpulver vom Smp. 246 – 249°. Authentisches Strophanthidin-azetat (VI), das analog gereinigt war, schmolz bei 247 – 249°, die Mischprobe bei 246 – 249°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = +55{,}4° \pm 2°$ (c = 0,993 in $CHCl_3$)[54].

9,929 mg Subst. zu 0,9971 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0{,}55° \pm 0{,}02°$

Zur Analyse wurde bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,771 mg Subst. gaben 9,273 mg CO_2 und 2,611 mg H_2O
$C_{25}H_{34}O_7$ (446,52) Ber. C 67,24 H 7,68 %
Gef. C 67,11 H 7,75 %

Das Azetat gab eine rote *Legal*-Reaktion. In konz. Schwefelsäure löste es sich mit roter Farbe, die nach ca. 5 Minuten in Gelb überging. Genau gleich verhielt sich authentisches Strophanthidin-azetat (VI).

Untersuchung der Zucker.

Die mit $CHCl_3$ ausgeschüttelte, salzsaure wässerige Lösung wurde im Vakuum von $CHCl_3$-Resten befreit, zur Hydrolyse eventuell vorhandener Azetonverbindungen oder Methylglykoside 1 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, nach dem Abkühlen durch energisches Schütteln mit reinem Ag_2CO_3 neutralisiert und durch ein mit Ag_2CO_3 gedichtetes Filter genutscht. Das Filtrat wurde bei 15° kurz mit H_2S behandelt und die hellbraune Lösung durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filterchen genutscht. Nach Einengen im Vakuum fiel noch eine Spur Niederschlag aus, der durch dasselbe Filter entfernt wurde. Zum Schluß wurde im Vakuum zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde in kaltem Methanol aufgenommen, ein geringer Niederschlag durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter abfiltriert und die Methanollösung im Vakuum eingedampft. Es blieben 70 mg Zuckergemisch als farbloser Schaum, der *Fehling*'sche Lösung beim Erhitzen stark reduzierte. Aus 280 mg Cheirotoxin-trihydrat vom Mol.-Gew. 766,80 wären theoretisch 126 mg Zuckergemisch (Hexose und Methylpentose) zu erwarten, doch sind die Verluste bei der Isolierung von Zuckern bekanntlich relativ groß. Weder aus abs. Alkohol (in dem sich das Produkt nur teilweise löste) noch aus wenig Methanol (in dem es gut löslich war) konnten Kristalle erhalten werden, auch nicht nach Impfen mit aus Methanol umkristallisierter *d*-Glucose.

Versuch zur Isolierung eines β-Naphthylhydrazons.

Die 70 mg rohes Zuckergemisch wurden in 1 cm³ Methanol gelöst, mit 60 mg reinem β-Naphthylhydrazin versetzt und 5 Minuten unter Rückfluß

[54] Für authentisches Strophanthidin-azetat (VI) fanden *Reichstein und Rosenmund*[45] früher $[\alpha]_D^{18} = +55{,}8°$.

gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit wenig frischem Methanol verflüssigt. Nach viertägigem Stehen bei 0° konnten keine Kristalle erhalten werden, auch nicht nach Impfen mit dem leicht kristallisierenden *l*-Rhamnose-*β*-naphthylhydrazon[55] und dem schwerer kristallisierenden *d*-Glucose-*β*-naphthylhydrazon[56]. Daher wurde im Vakuum eingedampft und zur Freisetzung der Zucker mit 5 cm³ Wasser, 10 mg Benzoesäure und 0,25 cm³ frisch destilliertem Benzaldehyd unter CO_2-Abschluß 1 Stunde auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Die trübe Lösung wurde hierauf auf 0° abgekühlt, filtriert und das Filtrat sechsmal mit je 5 cm³ Äther ausgeschüttelt. (Die Ätherauszüge wurden verworfen.) Die wässerige Lösung wurde im Vakuum auf 3 cm³ eingeengt, mit 50 mg mit dest. Wasser ausgekochter Kohle geschüttelt und abgenutscht. Die fast farblose wässerige Lösung hinterließ beim Eindampfen 65 mg regeneriertes Zuckergemisch als hellen Schaum.

Isolierung von d-Glucosazon.

Die 65 mg regeneriertes Zuckergemisch wurden in 0,5 cm³ Wasser gelöst, mit 130 mg Phenylhydrazin und 1 Tropfen Eisessig versetzt und unter CO_2-Abschluß 2 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Hierauf wurde zur Entfernung der CO_2-Reste offen kurz aufgekocht, abgekühlt und allmählich mit 1 cm³ Wasser versetzt, worauf bald Kristallisation eintrat. Die Kristalle wurden abgenutscht, mit 1proz. Essigsäure, dann mit Toluol und Äther gewaschen. (Waschwasser und Toluol-Äther-Lösung wurden separat aufgefangen, siehe weiter unten.) Die rohen braungelben Kristalle schmolzen bei 176 – 180°. Umkristallisieren aus Alkohol-Äther gab 4 mg kanariengelbe, feine Nadeln vom Smp. 210 – 211°. Authentisches *d*-Glucosazon sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Zur Analyse Trocknung bei 60°.

2,506 mg Subst. gaben 5,524 mg CO_2 und 1,421 mg H_2O
0,945 mg Subst. gaben 0,133 cm³ N_2 (20°; 728 mm)
$C_{18}H_{22}O_4N_4$ (358,36) Ber. C 60,32 H 6,19 N 15,63 %
Gef. C 60,16 H 6,35 N 15,71 %

Versuche zur Isolierung eines weiteren Osazons.

Die Mutterlaugen des Glucosazons gaben nach starkem Einengen und Zusatz von Äther gelbbraune Kristalle vom Smp. 158 – 170°. Wenig Kristalle von ähnlichem Smp. konnten durch Einengen der Toluol-Äther-Lösung erhalten werden. Ferner wurde die wässerige Lösung, aus der sich das rohe Osazongemisch abgeschieden hatte, nochmals mit 120 mg Phenylhydrazin erhitzt, worauf sich noch etwas halbkristalliner Niederschlag abschied, der abgenutscht, mit 1proz. Essigsäure und hierauf mit einer Spur

[55] *W. A. van Ekenstein, C. A. Lobry de Bruyn*, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *15*, 225 (1896).

[56] *A. Hilger, S. Rothenfußer*, Ber. dtsch. chem. Ges. *35*, 1841 (1902) fanden für dieses Produkt einen Smp. 178 – 179°, *W. A. van Ekenstein, C. A. Lobry de Bruyn*, Ber. dtsch. chem. Ges. *35*, 3082 (1902) dagegen einen solchen von 125°, bzw. 158 – 159°. Wir erhielten es aus abs. Alkohol mit einem Smp. von 172 – 173°. Es kristallisiert, wenn kleine Mengen vorliegen, nicht sehr leicht.

Alkohol, dann gut mit Äther gewaschen wurde (Waschalkohol und Äther wurden zusammen aufgefangen, aber getrennt vom Wasser, siehe unten). Die so erhaltenen braungelben Kristalle wurden mit den zwei obengenannten Portionen vereinigt (total 20 mg), in 10 cm³ heißem Chloroform aufgenommen (es löste sich nicht alles) und nach dem Erkalten durch eine mit Chloroform bereitete Säule aus 0,6 g alkalifreiem Al_2O_3 filtriert und mit je 10 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Farbe des Filtrats
1— 5	Chloroform	farblos
6—12	Chloroform-Methanol (9:1)	schwach gelb
13—20	Chloroform-Methanol (9:1)	sehr schwach gelb
21—22	Chloroform-Methanol (4:1)	stark gelb
23—30	Chloroform-Methanol (3:1)	sehr schwach gelb
31	Methanol	stark gelb
32—34	Methanol	sehr schwach gelb

Die Fraktionen 6 – 12 wurden vereinigt. Aus Alkohol-Äther schieden sich wenig kanariengelbe Kristalle vom Smp. 210 – 211° ab. Die Mischprobe mit *d*-Glucosazon gab eine Depression von 15°. Ganz gleiche Kristalle (Mischprobe und Depression mit *d*-Glucosazon) wurden auch aus den Fraktionen 13 – 20 sowie 21 – 34 erhalten. Total betrug die Ausbeute aber nur 1 mg, so daß eine Identifizierung nicht gelang.

Die Mutterlaugen dieser Kristalle wurden mit den im Vakuum eingedampften Toluol-Äther-Waschlösungen sowie den Alkohol-Äther-Waschlösungen (siehe oben) vereinigt. Dieses Material (35 mg) wurde in 4 cm³ Chloroform gelöst (löste sich leicht), mit 1 cm³ abs. Benzol versetzt und durch eine mit Benzol-Chloroform (1 : 3) bereitete Säule von 1 g Al_2O_3 filtriert. Zum Nachwaschen dienten je 5 cm³ der in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Rückstand mg
1— 3	Benzol-Chloroform (1:3)	4
4— 9	Chloroform	4
10—15	Chloroform-Methanol (9:1)	9
16—20	Chloroform-Methanol (9:1)	7
21—25	Chloroform-Methanol (9:1)	3
26—35	Chloroform-Methanol (4:1)	3
36—40	Methanol	5

Die Fraktionen 1 – 3, 4 – 9, 10 – 15, 26 – 35 und 36 – 40 lieferten aus Alkohol-Äther höchstens Spuren von Kristallen. Die Fraktionen 16 – 20 sowie 21 – 25 gaben aus wenig abs. Alkohol mit Äther ca. 2 mg gelbe

Kristalle von nicht deutlich erkennbarer Form, die bei 170 – 174° schmolzen. Die Mischprobe mit *l*-Rhamnosazon vom Smp. 189 – 190° gab eine Schmelzpunktserniedrigung von 10°. Wahrscheinlich lag hier das Osazon des zweiten Zuckers vor, doch war die Menge für eine Analyse ungenügend.

In Vorversuchen mit authentischem *l*-Rhamnosazon und *d*-Glucosazon wurde festgestellt, daß unter Bedingungen, die den oben angewandten völlig entsprechen, reines *l*-Rhamnosazon (Smp. 189 – 190°) bei der Chromatographie an alkalifreiem Al_2O_3 (dieselbe Probe wie im Hauptversuch) mit reinem Chloroform nur spurweise, mit Chloroform-Methanol (9 : 1) allmählich fast vollständig und mit Chloroform-Methanol (4 : 1) rasch und vollständig eluiert wird. Im normalen Chromatogramm findet sich die Hauptmenge in den mit Chloroform-Methanol (9 : 1) abgelösten Anteilen. Von 30 mg, die eingesetzt wurden, ließ sich fast alles in reiner Form regenerieren. *d*-Glucosazon wird von Chloroform-Methanol (9 : 1) gar nicht, von Chloroform-Methanol (4 : 1) sowie (1 : 1) allmählich vollständig eluiert. Von 38 mg ließen sich aus diesen Fraktionen 30 mg zurückgewinnen.

Azetat A.

Dieser Stoff wurde aus beiden Samensendungen erhalten. 6 kg frische Samen lieferten total 3,5 g reines Azetat A. Der Stoff kristallisierte aus Azeton-Äther in farblosen Nadeln, die meistens unscharf bei 155 – 160° schmolzen, worauf die Schmelze zu langen Nadeln erstarrte, die definitiv bei 245 – 247° schmolzen. Manchmal tritt statt des ersten Schmelzpunktes nur leichtes Sintern ein, oder es wurde auch nur der höhere Smp. beobachtet. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +0{,}6° \pm 2°$ (c = 1,626 in $CHCl_3$) (Trocknung bei 80°).

16,411 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0{,}01° \pm 0{,}02°$
3,722 mg Subst. gaben 8,092 mg CO_2 und 2,394 mg H_2O
11,004 mg Subst. verbr. 0,856 cm³ 0,1-n-KOH (Laktontitration)[51]
0,992 mg Subst. (2 Tage über P_2O_5 getrocknet) gaben in 14,314 mg Campher $\triangle = 2{,}6°$ (Mol.-Gew.-Bestimmung nach *Rast*)
6,966 mg Subst. verbr. 0,156 cm³ H_2 (0°; 760 mm) (Hydrierung in Eisessig mit PtO_2)

$C_{55}H_{80}O_{23}$ (1109,19) Ber. C 59,55 H 7,27 % Äquiv.-Gew. 138[57]
$C_{53}H_{78}O_{22}$ (1067,15) Ber. C 59,65 H 7,36 % Äquiv.-Gew. 152[58]
Gef. C 59,34 H 7,20 % Äquiv.-Gew. 128
Gef. Mol.-Gew. = 1049,14
Gef. Doppelbindungszahl = 1,108 (für Mol.-Gew. = 1109,19)
Gef. Doppelbindungszahl = 1,065 (für Mol.-Gew. = 1067,15)

Die alkoholische Lösung gab im Ultraviolett-Absorptionsspektrum bis 210 mμ keine Meßpunkte über log ε = 3.

[57] Ber. für 7 Azetyl- und 1 Laktongruppe.
[58] Ber. für 6 Azetyl- und 1 Laktongruppe.

besten auf die Formel $C_{12}H_{24}O_6N_2S_3$. Ein Diazetat des Thioharnstoffs $(CH_3 \cdot SO_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2NH)_2C{=}S$ hätte die Formel $C_{13}H_{24}O_6N_2S_3$. Die Substanz wurde nicht weiter untersucht. Bei der Tetranitromethan-Probe wurde eine gelbe Färbung erhalten.

Azetat D. Dieses Azetat wurde, ebenso wie Azetat C, auch nur aus der ersten Charge, aber in etwas größerer Menge als dieses erhalten. Es kristallisierte in Nadeln vom Smp. 162 – 164° und $[\alpha]_D^{18} = -27{,}9° \pm 2°$ (c = 1,182 in Chloroform) und war frei von N, S und Halogen. Gegen Tetranitromethan war es ungesättigt. Heiße Verseifung mit KOH in wässerigem Methanol gab einen schlecht kristallisierenden Neutralstoff, der unscharf bei 268 – 278° schmolz und durch Azetylierung wieder ins Azetat D überging. Den Eigenschaften nach könnte ein sterolinartiger Stoff vorliegen. Die Analysen stimmten am besten mit der Annahme überein, daß es sich um ein Monoglykosid eines Alkohols $C_{30}H_{52}O_2$ handelt, dem die Formel $C_{36}H_{62}O_7$ zukommt. Azetat D wäre dann ein Tetraazetat $C_{44}H_{70}O_{11}$. Aber auch die um CH_2 ärmeren Formeln, die sich von einem Aglykon $C_{29}H_{50}O_2$ ableiten, sind nicht mit Sicherheit auszuschließen.

Azetat E. Dieser gut kristallisierende N- und S-freie Stoff wurde in kleiner Menge nur aus der zweiten Samensendung isoliert. Aus Methanol kristallisiert schmolz er bei 168 – 169° und gab bei der *Legal*-Probe eine orange-rote Färbung, die viel länger anhielt als die rote Farbe bei den Strophanthidin-Abkömmlingen. Im Ultraviolett zeigte er in alkoholischer Lösung selektive Absorption (siehe Kurve) mit einem Maximum bei ca. 241mμ und log $\varepsilon = 4{,}34$ (ber. für Mol.-Gew. = 714,42), wie sie für α, β-ungesättigte Ketone typisch ist. Die Tetranitromethan-Probe zeigte keine deutliche Gelbfärbung. Verseifung mit $KHCO_3$ in wässerigem Methanol bei 18° gab die azetylfreie Verbindung, die bei 196 – 197° schmolz und dieselbe *Legal*-Reaktion gab wie das Azetat. Beim Kochen mit KOH in Methanol wurde kein Alkali verbraucht; es handelt sich somit nicht um ein Lakton. Bei der Prüfung am Frosch erwies sich der Stoff auch als unwirksam. Die Analysen stimmten am besten auf eine Formel $C_{29}H_{44}O_9$ und für das Azetat auf ein Tetraazetat der Formel $C_{37}H_{52}O_{13}$, vorausgesetzt, daß die Mol.-Gewichtsbestimmung des Azetats ungefähr richtig war. Andernfalls sind auch andere Formeln möglich.

Azetat F. Aus den Mutterlaugen von Azetat D wurde dieser gut kristallisierende Stoff vom Smp. 192 – 193° in kleiner Menge erhalten. Er war N- und S-frei und gab bei der *Legal*-Probe keine Färbung, mit Tetranitromethan schwache Gelbfärbung. Nach den Analysenresultaten wären die Formeln $C_{42}H_{62}O_{14}$ oder $C_{39}H_{58}O_{13}$ möglich. Der Stoff wurde nicht weiter untersucht.

Azetat G. Dieses Azetat wurde neben Azetat F auch aus den Mutterlaugen von Azetat D genommen. Es bildete farblose Nadeln vom Smp. 198 – 199° und gab mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Nach den Verbrennungswerten ist es isomer mit Azetat D und zeigt auch sehr ähnliche Löslichkeitseigenschaften. Es wurde nicht weiter untersucht.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Aus Goldlacksamen wurde ein kristallisiertes, sehr stark herzwirksames Glykosid isoliert, das Cheirotoxin genannt wird. Es wurde festgestellt, daß es sich um ein Diglykosid des Strophanthidins handelt. Der eine Zucker ist wahrscheinlich *d*-Glucose, der andere vermutlich eine Methylpentose.

Außer Cheirotoxin wurden noch sechs weitere Stoffe in Form ihrer Azetate isoliert und als Azetat A, C, D, E, F und G bezeichnet. Aus den Azetaten A, D und E wurden durch Verseifung auch die freien Substanzen A, D und E bereitet. Substanz A ist ebenfalls ein Diglykosid eines Oxylaktons und wird mit Alkali in ein Isolakton umgelagert, besitzt jedoch am isolierten Froschherzen keine typische digitalisartige Wirkung. Der eine Zucker ist wahrscheinlich *d*-Glucose, der andere vermutlich eine unaufgeklärte Hexose. Substanz E ist wahrscheinlich ein α, β-ungesättigtes Keton. In folgender Tabelle sind die Schmelzpunkte, Drehungen und wahrscheinlichsten Formeln der sieben Stoffe und ihrer Azetate zusammengestellt.

	Smp.	$[\alpha]_D$	Wahrscheinlichste Formel	Legal-Reaktion	Tetranitromethan
Cheirotoxin . . .	210—211°	—17° (Me)	$C_{35}H_{52}O_{15}$	rot	—
Cheirotoxin-azetat .	219—221°	—1° (Chf)	$C_{47}H_{64}O_{21}$	rot	farblos
Lakton A	284—285°	—	$C_{41}H_{66}O_{16}$	orange	—
Azetat A	245—247°	+1° (Chf)	$C_{55}H_{80}O_{23}$	orange	farblos
Azetat C	131—132°	—	$C_{12}H_{24}O_6N_2S_2$	farblos	gelb
Substanz D . . .	268—278°	—	$C_{36}H_{62}O_7$	—	—
Azetat D	162—164°	—28° (Chf)	$C_{44}H_{70}O_{11}$	farblos	gelb
Substanz E . . .	196—197°	+104° (Me)	$C_{29}H_{44}O_9$	orangerot	—
Azetat E	168—169°/176—177°	—	$C_{37}H_{52}O_{13}$	orangerot	schwach gelb
Azetat F	192—193°	+28° (Chf)	$C_{32}H_{62}O_{14}$ od. $C_{39}H_{58}O_{13}$	farblos	schwach gelb
Azetat G	198—199°	+88° (Chf)	$C_{44}H_{70}O_{11}$	farblos	gelb

Me = Methanol, Chf = Chloroform

Wir danken Herrn Dr. *H. Reich* für wertvolle Hilfe bei Abfassung des Manuskripts.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze ± 2°. Zur Analyse und Drehung wurden die Substanzproben im Hochvakuum getrocknet, wenn nichts anderes bemerkt zur Analyse 2 Std. bei 100°, zur Drehung 1 Std. bei 60°. «Schweinchen» bedeutet, daß

die unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. Die Mikroanalysen und Molekulargewichtsbestimmungen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidgen. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*), ausgeführt, ebenso das U. V.-Absorptionsspektrum von Azetat E. Die Molekulargewichte wurden nach *Rast* bestimmt mit einem Campherpräparat vom Smp. 176,1° und der molaren Depression von 39,36°, das mit *epi*-Cholestanol eingestellt war.

Entfetten der Samen.

1 kg Goldlacksamen wurden gemahlen, so daß die Feinheit ungefähr dem Sieb III der Ph. H. V entsprach, und durch siebenmaliges Schütteln mit tiefsiedendem Petroläther bei 18° extrahiert. Die auf Sieb IVa der Ph. H. V weiter zerkleinerten Samen wurden hierauf nochmals fünfmal mit Petroläther geschüttelt und die letzten Fettreste mit dem gleichen Lösungsmittel durch zweitägige Perkolation entfernt. Das entfettete, bei 30° getrocknete Pulver wog 740 g und schmeckte stark bitter. Die eingedampften Petrolätherextrakte hinterließen 250 g gelbbraunes, fettes Öl.

Vorversuch zur Extraktion der entfetteten Samen.

a) Extraktion mit 50proz. Methanol nach Mazeration mit Wasser.

10 g entfettetes Samenpulver wurden in einer Pulverflasche mit 30 cm³ dest. Wasser vermischt, durch Zusatz von 25 Tropfen 2-n-Sodalösung genau auf Lackmus neutralisiert, mit 3 cm³ Toluol versetzt und sechs Tage bei 18° stehen gelassen. Die Reaktion blieb neutral. Hierauf wurde mit 30 cm³ Methanol versetzt, wodurch eine schleimige Fällung entstand, und scharf abgenutscht. Als Filterschicht dienten auf der Nutsche von unten nach oben folgende Lagen: feines Filterpapier, grobes Filterpapier, Gaze, Seesand (2 cm), Gaze. Ohne Sandschicht war eine Filtration unmöglich. Es wurde mit 20 cm³ 50proz. Methanol nachgewaschen und der noch bitter schmeckende Rückstand nochmals mit 60 cm³ 50proz. Methanol 15 Std. bei 18° geschüttelt. Nach Filtration durch dieselbe Nutsche und Nachwaschen mit 30 cm³ 50proz. Methanol war der Rückstand nicht mehr bitter. Eindampfen der dunkelgelben Filtrate im Vakuum bei 40° gab 2,5 g (= 25 %) Rohextrakt a) als gelbe hygroskopische, schaumige Masse von intensiv bitterem Geschmack.

b) Extraktion mit Methanol im Soxhlet.

10 g entfettetes Samenpulver wurden mit 180 cm³ Methanol 6 Std. im Soxhlet extrahiert, worauf der Rückstand nicht mehr bitter schmeckte. Der im Vakuum bei 40° eingedampfte Auszug gab 1,89 g (= 18 %) gelben hygroskopischen, schaumigen Rohextrakt b), der sehr bitter war und sich in Wasser nur teilweise löste. Die Aufschwemmung reagierte auf Lackmus neutral.

c) Extraktion mit kaltem Methanol.

10 g entfettetes Samenpulver wurden mit 50 cm³ Methanol 2 Std. geschüttelt und hierauf abgenutscht. Die Extraktion mußte noch neunmal wiederholt werden, bis das verbleibende Samenpulver nicht mehr bitter war. Eindampfen der vereinigten Auszüge im Vakuum bei 40° gab 2 g (= 20 %) Rohextrakt c) als hellgelben, hygroskopischen Schaum, der sehr bitter schmeckte. In Wasser löste er sich nur teilweise mit neutraler Reaktion.

d) Extraktion mit 70proz. Äthanol.

10 g entfettetes Samenpulver wurden dreimal mit je 100 cm³ 70proz. Äthanol bei 15° geschüttelt und durch ein Sandfilter [wie bei a)] filtriert. Das Samenpulver war hierauf nicht mehr bitter. Die im Vakuum bei 40° eingedampften Auszüge gaben 2,3 g (= 23 %) Rohextrakt d), der sich ebenso wie b) und c) verhielt.

Die orientierende biologische Prüfung[24] der vier Extrakte ergab folgendes Bild:

	a)	b)	c)	d)
Am urethanisierten Kaninchen; kleinste wirksame Dosis (mg/kg)	0,5	0,25	0,25	0,25
Froschtoxizität (mg/kg)	>10	10	10	>10
Am isolierten Froschherzen: minimal wirksame Konzentration	10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-6}
Systol. Stillstand	10^{-4}	2.10^{-5}	5.10^{-5}—10^{-4}	10^{-4}
Am isolierten Dünndarm des Kaninchens: minimal wirksame Konzentration	2.10^{-6}	10^{-6}	10^{-5}	5.10^{-6}
Maximal wirksame Konzentration . .	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-4}
Am isolierten Meerschweinchenuterus: minimal wirksame Konzentration . .	5.10^{-5}	2.10^{-5}	10^{-5}	10^{-5}

Danach scheinen keine großen Unterschiede zwischen den vier Extrakten zu bestehen. Immerhin sind b) und c) am Frosch deutlich stärker wirksam als a) und d).

Präparative Extraktion des entfetteten Samenpulvers.

740 g entfettetes Samenpulver (= 1 kg frische Samen) wurden 2 Stunden mit 3,7 Litern 66proz. Methanol bei 18° geschüttelt, durch ein wie bei Vorversuch a) bereitetes Sandfilter genutscht und zweimal mit 185 cm³ 66proz. Methanol nachgewaschen. Der abgehobene Rückstand wurde nochmals mit 3,7 Litern und anschließend zweimal mit je 1,85 Litern 66proz.

Methanol je 18 Stunden geschüttelt und wie oben abgenutscht, worauf er nicht mehr bitter schmeckte. (Das extrahierte Samenpulver wog nach Trocknen ca. 500 g und wurde verworfen.) Die gelben, leicht trüben Filtrate, die auf Lackmus fast neutral reagierten, wurden im Vakuum bei 35 – 40° Badtemperatur auf ca. 4,9 Liter eingeengt und hierauf mit dem frisch aus 2 Litern 2-n-Bleiazetatlösung [= 650 g $Pb(OAc)_2 \cdot 3\,H_2O$] mit 2 Litern 2-n-NaOH gefällten und mit dest. Wasser völlig neutral gewaschenen $Pb(OH)_2$ 6 Stunden auf der Maschine energisch geschüttelt. Die Mischung reagierte auch am Schluß neutral auf Lackmus. Dann wurde durch ein Sandfilter, das zuoberst noch mit einer Schicht $PbCO_3$ gedichtet war, scharf abgenutscht und zweimal mit je 200 cm³ 50proz. Methanol nachgewaschen. Das klare gelbbraune Filtrat erwies sich als Pb-frei und wurde im Vakuum bei 35 – 40° Badtemperatur auf 500 cm³ eingeengt, wobei man zur Vermeidung des Schäumens ständig nur soviel Lösung in den 4 Liter fassenden Destillierkolben einlaufen ließ, daß sich immer etwa 500 cm³ darin befanden.

Der rotbraune Fluidextrakt wurde nun sechsmal mit je 150 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die gelbe Ätherlösung wurde in drei weiteren Schütteltrichtern mit je 25 cm³ Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es verblieben ca. 1 g gelbes Öl, das kaum bitter schmeckte und verworfen wurde. Die wässerige Lösung wurde nun zwölfmal mit je 200 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die Chloroform-Alkohol-Auszüge passierten im Gegenstromprinzip dieselben Waschwässer wie die früheren Ätherauszüge, wobei man zu den ersten 25 cm³ Waschwasser 2,5 g feste Soda zufügte, die sich zunächst darin auflöste, später beim Aufnehmen von Alkohol aber teilweise wieder auskristallisierte. Nach Trocknen der gewaschenen, fast farblosen Auszüge über Na_2SO_4 wurde im Vakuum bei 35 – 40° eingedampft. Der hellgelbe, schaumige, sehr bitter schmeckende Rückstand wog 9 g (= 0,9 % der frischen Samen) und enthielt die Hauptmenge der Rohglykoside (Wirksamkeit siehe theoret. Teil).

Die verbleibende wässerige Lösung schmeckte nicht mehr bitter. Sie hinterließ beim Eindampfen im Vakuum 133 g (= 13 %) rotbraunen Schaum, der sehr schwach bitter schmeckte, aber, wie im theoretischen Teil erwähnt, noch ca. 50 FD/mg enthielt. Da beim Extrahieren des entfetteten Samenpulvers mit verdünntem Methanol etwa 240 g Material in Lösung gingen und total nur 143 g in Form der drei Extrakte wiedergewonnen wurden, sind etwa 97 g mit dem Bleiniederschlag entfernt worden.

Weitere 2 kg derselben Samensendung wurden von der *Ciba* in gleicher Weise extrahiert und lieferten 511,5 g fettes Öl, 4 g Ätherextrakt, 17 g Chloroform-Alkohol-Extrakt (Rohglykoside) sowie 223 g wasserlöslichen Rest, also ganz ähnliche Ausbeuten. 3 kg einer zweiten Samensendung lieferten 4 g Ätherextrakt, 41,6 g Chloroform-Alkohol-Extrakt (Rohglykoside), 423 g wässerige Reste sowie 1477 g extrahiertes Samenpulver. Die Ausbeute an Rohglykosiden war hier also höher.

Azetylierung der Rohglykoside.

9 g Rohglykoside (Chloroform-Alkohol-Extrakt) wurden in 55 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 55 cm³ Azetanhydrid versetzt, 18 Std. bei 18° stehen

gelassen und anschließend 1½ Std. auf 60° erwärmt. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in 120 cm³ Chloroform gelöst, die dunkelbraune Lösung dreimal mit je 12 cm³ 2-n-Salzsäure, dreimal mit je 12 cm³ 2-n-Sodalösung und noch einmal mit 12 cm³ Wasser gewaschen. Alle wässerigen Phasen wurden der Reihe nach zweimal mit je 20 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten, über Na_2SO_4 getrockneten Chloroformlösungen wurden im Vakuum eingedampft, zur Entfernung von Chloroformresten in wenig abs. Benzol gelöst, nochmals im Vakuum eingedampft und gut getrocknet. Es blieben 10,6 g brauner Schaum, der schwach bitter schmeckte. Total wurden 66 g Extrakt azetyliert und daraus 69 g Azetatgemisch gewonnen.

Chromatographie der Azetate.

5,04 g Azetatgemisch (aus der ersten Samensendung) wurden in 500 cm³ abs. Benzol heiß gelöst und nach dem Erkalten (wenig Schlamm blieb ungelöst) durch eine mit abs. Benzol bereite Säule von 150 g alkalifreiem Al_2O_3[48] filtriert. Hierauf wurde mit je 500 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen, jede Fraktion für sich eingedampft, im Vakuum getrocknet, gewogen und soweit möglich aus wenig Azeton-Äther kristallisiert.

Die Fraktionen 5 – 8 wurden vereinigt und gaben aus wenig Azeton 250 mg Azetat D vom Smp. 162 – 164° (Verarbeitung der Mutterlaugen auf Azetate G und F siehe weiter unten).

Die vereinigten Fraktionen 11 – 13 gaben aus Azeton-Äther 300 mg Azetat A vom Smp. 245 – 247°.

Die vereinigten Fraktionen 14 – 17 lieferten aus Azeton-Äther bei 0° oder aus wenig Methanol nach längerem Stehen bei —10° total 150 mg Azetat B (Cheirotoxin-azetat) vom Smp. 219 – 221°.

Fraktion 20 gab nach Umkristallisieren aus Azeton-Äther und Azeton-Methanol 50 mg Azetat C vom Smp. 130 – 131°.

Die Mutterlaugen von Azetat D wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in abs. Äther gelöst, die klare Lösung von wenig unlöslichem Material abgegossen und eingeengt. Nach einigem Stehen schied sich Azetat F in farblosen Nadeln vom Smp. 192 – 193° ab, die in Azeton und Benzol leicht löslich sind. Die verbleibenden Mutterlaugen gaben bei fraktionierter Kristallisation aus Azeton 7 mg Azetat G vom Smp. 198 – 199°, das in Äther leicht, in Azeton schwerer löslich ist als die Azetate D und F. Von den hierauf verbleibenden Mutterlaugen wurden 350 mg nochmals an 9 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert, wobei das Material mit Benzol-Petroläther (1 : 1) auf die Säule gegeben und für jede Fraktion 30 cm³ Lösungsmittel verwendet wurde. Mit Benzol-Petroläther sowie mit abs. Benzol wurden in vier Fraktionen nur Spuren abgelöst. Benzol-Äther (1 : 1) eluierte in vier Fraktionen total 170 mg Material, aus dem sich 140 mg krist. Azetat D vom Smp. 162 – 164° gewinnen ließen. Reiner abs. Äther eluierte in drei Fraktionen 100 mg Material, aus dem noch 13 mg reines Azetat G vom Smp. 198 – 199° isoliert werden konnten. Benzol-Chloroform

[48] Al_2O_3 Merck, standardisiert nach *Brockmann*, mehrmals mit dest. Wasser, dann mit Methanol ausgekocht, getrocknet und bei 180 – 190° reaktiviert.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Rückstand g	Smp. der Rohkristalle	Legal-Reaktion der Krist.
1	Benzol	Spur	—	—
2	Benzol	Spur	—	—
3	Benzol	Spur	—	—
4	Benzol + $CHCl_3$ (9:1)	Spur	—	—
5	Benzol + $CHCl_3$ (9:1)	0,43	158—162°	—
6	Benzol + $CHCl_3$ (9:1)	0,43	159—162°	—
7	Benzol + $CHCl_3$ (4:1)	0,11	158—161°	—
8	Benzol + $CHCl_3$ (4:1)	0,12	158—161°	—
9	Benzol + $CHCl_3$ (4:1)	Spur	—	—
10	Benzol + $CHCl_3$ (4:1)	Spur	—	—
11	Benzol + $CHCl_3$ (1:1)	1,07	244—246°	orange
12	Benzol + $CHCl_3$ (1:1)	0,15	243—248°	orange
13	Benzol + $CHCl_3$ (1:1)	0,16	240—245°	orange
14	Benzol + $CHCl_3$ (1:3)	0,20	215—220°	rot
15	Benzol + $CHCl_3$ (1:3)	0,19	217—220°	rot
16	Benzol + $CHCl_3$ (1:3)	0,15	217—221°	rot
17	Benzol + $CHCl_3$ (1:3)	0,10	216—220°	rot
18	Benzol + $CHCl_3$ (1:3)	0,05	—	—
19	Benzol + $CHCl_3$ (1:3)	0,05	—	—
20	Chloroform	1,20	130—134°	—
21	Chloroform	0,10	—	—
22	Chloroform	0,05	—	—
23	Chloroform	0,05	—	—
24	$CHCl_3$-Methanol 9:1	0,20	—	—
25	Methanol	Spur	—	—

eluierte nur Spuren, während reines Chloroform noch 50 mg Material lieferte, das Kristalle vom Smp. 160 – 180° gab, die nicht weiter untersucht wurden.

In gleicher Weise, wie in der großen Tabelle angegeben, wurde der ganze Azetatvorrat von 69 g chromatographiert, wobei das Material der ersten und zweiten Samensendung etwas verschiedene Resultate lieferte und daher bis zum Schluß separat gehalten wurde. Bei der Chromatographie der Azetate der zweiten Samensendung wurde aus den mit Benzol-Chloroform (4 : 1) eluierten Fraktionen kein D-Azetat, sondern Azetat E vom Smp. 176 – 177° (aus Azeton-Äther) bzw. Smp. 168 – 169° (aus Methanol) erhalten.

Die nicht kristallisierenden Fraktionen sowie die Mutterlaugen der Kristalle jeder Samensendung wurden nach Elutionsmitteln in fünf Gruppen wie folgt vereinigt:

a) Alle Fraktionen, die mit Benzol bis Benzol-Chloroform (4 : 1) eluiert waren (entspr. Nr. 1 – 10 der Tabelle).
b) Alle Fraktionen bis Benzol-Chloroform (1 : 1) (entspr. Nr. 11 – 13 der Tabelle).

c) Alle Fraktionen bis Benzol-Chloroform (1 : 3) (entspr. Nr. 14 – 19 der Tabelle).
d) Alle Fraktionen bis Chloroform (entspr. Nr. 20 – 23 der Tabelle).
e) Alle Fraktionen bis Methanol (entspr. Nr. 24 – 25 der Tabelle).

Die Gruppen a) und e) wurden vorläufig vernachlässigt. b), c) und d) wurden nochmals wie oben chromatographiert. Aus der Gruppe b) ließ sich hierauf noch reichlich Azetat A und aus der Gruppe c) neben wenig Azetat A noch reichlich Azetat B (Cheirotoxin-azetat) isolieren. Gruppe d) lieferte ebenfalls noch brauchbare Mengen Azetat B (Cheirotoxin-azetat), das sich am besten nach längerem Stehen der mit Azetat B geimpften Lösung in Methanol bei —10° abschied.

Cheirotoxin-azetat (Azetat B) (IV).

Aus der ersten Samensendung wurde dieses Produkt gleich bei der ersten Chromatographie des rohen Azetatgemisches kristallisiert erhalten. Bei der Verarbeitung der zweiten Samensendung wurden erst nach Wiederholung der Chromatographie Kristalle gewonnen. Zur völligen Reinigung wurde aus Azeton-Äther, dann aus Methanol und zum Schluß nochmals aus Azeton-Äther umkristallisiert. Aus 6 kg frischen Samen wurden total 1,5 g reines Azetat in farblosen Nadeln vom Smp. 219 – 221° erhalten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = -1{,}3° \pm 2°$ (c = 1,494 in $CHCl_3$).

15,154 mg Subst. zu 1,0141 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{21} = -0{,}02° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde nochmals aus Benzol-Petroläther umkristallisiert, doch blieb der Smp. unverändert. Das Produkt erwies sich als methoxylfrei. Die im Hochvakuum bei 80° getrocknete Probe gab bei nochmaligem Trocknen im Hochvakuum bei 100° keinen Gewichtsverlust (Schweinchen).

3,458 mg Subst. gaben 7,368 mg CO_2 und 2,063 mg H_2O
16,776 mg Subst. verbr. 1,180 cm³ 0,1-n-KOH (Laktontitration)[49]
0,727 mg Subst. (zwei Tage über P_2O_5 getrocknet) in 13,261 mg Campher gaben $\Delta = 2{,}2°$ (Mol.-Gew.-Best. nach *Rast*).

$C_{46}H_{62}O_{21}$ (950,95) Ber. C 58,10 H 6,57 % Äquiv.-Gew. 135,8[50]
$C_{47}H_{64}O_{21}$ (964,98) Ber. C 58,50 H 6,69 % Äquiv.-Gew. 137,8[50]
Gef. C 58,15 H 6,68 % Äquiv.-Gew. 142,2
Gef. Mol.-Gew. 980,82.

Cheirotoxin-azetat ist in Chloroform, Azeton und Benzol leicht, in Methanol schwer, in Äther, Petroläther und Wasser sehr schwer löslich. In konz. Schwefelsäure löst es sich im ersten Moment mit hellroter Farbe, die Lösung färbt sich aber fast sofort braun, nach ca. ½ Std. gelb und nach ca. 4 Stunden grün. Die alkoholische Lösung zeigt im Ultraviolett selektive

[49] 16 Std. mit überschüssiger alkoholischer KOH unter CO_2-Ausschluß gekocht, dann mit 0,1-n-Säure zurücktitriert (Vergleich mit Blindprobe).
[50] Ber. für 6 Azetyl- und 1 Laktongruppe.

Azetat A war in Chloroform und in Azeton leicht, in Methanol schwerer und in Äther sehr schwer löslich. Bei der *Legal-Probe* wurde eine orange Färbung erhalten. In konz. Schwefelsäure löste es sich zunächst hellrot, beim Stehen färbte sich die Lösung nach ca. ½ Std. braun. Ca. 2 mg Azetat A, in möglichst wenig Chloroform gelöst, gaben mit Tetranitromethan *keine* Gelbfärbung.

Lakton A.

1,0 g reines Azetat A vom Smp. 245 – 247° wurden in 250 cm³ Methanol heiß gelöst, nach dem Erkalten mit der kalt bereiteten Lösung von 1,0 g $KHCO_3$ in 50 cm³ Wasser versetzt und die klare Mischung 10 Tage bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 20° auf 20 cm³ eingeengt, wobei die Hauptmenge Lakton A in Nadeln auskristallisierte. Es wurde abgenutscht, mehrmals mit wenig Wasser gewaschen und im Vakuum über $CaCl_2$ getrocknet. Die rohen Kristalle wogen 450 mg und schmolzen bei 280 – 286°. Das Filtrat und die Waschwässer wurden sechsmal mit je 50 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt und die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge stark eingeengt, wobei sich 200 mg Nadeln derselben Reinheit abschieden. Die Mutterlaugen gaben noch 50 mg vom gleichen Smp. (Mischprobe.) Totalausbeute 0,7 g (theoretisch wären aus einem Heptaazetat 735 mg und aus einem Hexaazetat 765 mg zu erwarten). Umkristallisieren aus Methanol-Chloroform, dann aus Methanol-Chloroform-Äther gab 650 mg farblose Nadeln vom Smp. 284 – 285° (Zers.). Zur Analyse wurde eine im Hochvakuum 2 Std. bei 80° vorgetrocknete Probe nochmals 4 Std. bei 110° getrocknet (Schweinchen) und gab dabei einen Gewichtsverlust von 2,9 %.

3,872 mg Subst. gaben 8,546 mg CO_2 und 2,995 mg H_2O
15,016 mg Subst. verbr. 0,180 cm³ 0,1-n-KOH (Laktontitration)[51]
$C_{41}H_{66}O_{16}$ (814,94) Ber. C 60,42 H 8,16 % Äquiv.-Gew. 814,94
Gef. C 60,23 H 8,37 % Äquiv.-Gew. 834,22

Lakton A war in reinem Alkohol, Methanol und Chloroform relativ schwer löslich. Besser löste ein Gemisch von Chloroform mit Alkohol oder mit Methanol. Azeton und Äther lösen fast nichts. Auch in Wasser ist es wenig löslich, relativ leicht in verdünntem Methanol und wässerigem Alkohol. In konz. Schwefelsäure lösten sich die Kristalle zunächst hellrot; die Farbe ging in ca. ½ Std. in Gelb über. Die orientierende pharmakologische Prüfung[24] gab folgendes Resultat:

Froschtoxizität: Über 25 mg/kg. Demnach enthält 1 mg Lakton A weniger als 40 FD.

Isoliertes Froschherz: Zunahme der Amplitude beginnend mit 10^{-6}. Ab 10^{-5} sekundäre Abnahme bei systolischer Einstellung mit 2.10^{-4}.

Isolierter Dünndarm des Kaninchens: Tonisierung und Zunahme der Pendelhöhe, z. T. aber auch spastische Kontraktion.

Isolierter Uterus des virginellen Meerschweinchens: Leicht auswaschbare Tonisierung beginnend mit 2.10^{-6}.

Lakton A wirkt somit auf Organe mit glatter Muskulatur in der Art der Herzglykoside, jedoch ist die digitalisartige Wirkung nur sehr schwach.

Azetat A aus Lakton A.

25 mg Lakton A wurden in 2 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 2 cm³ Azetanhydrid versetzt, 14 Std. bei 18° stehen gelassen und anschließend 1 Std. auf 60 – 70° erwärmt. Aufarbeitung wie bei «Azetylierung der Rohglykoside» gab einen fast farblosen Rückstand. Aus Azeton-Äther wurden 26 mg farblose Nadeln erhalten vom Doppel-Smp. 150 – 160°/245 – 248°. Die Mischprobe mit Azetat A gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Isolakton A.

100 mg Lakton A wurden mit 100 mg KOH in 4 cm³ Wasser und 10 cm³ Methanol 2 Std. unter Rückfluß gekocht. Die hellgelbe Lösung wurde im Vakuum auf 2 cm³ eingeengt, wobei nichts ausfiel. Es wurde mit CO_2 auf Resorcingelb neutralisiert und dreimal mit je 10 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt, doch hinterließ die eingedampfte Chloroform-Alkohol-Lösung keinen merkbaren Rückstand. Die verbliebene wässerige Lösung wurde hierauf mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt, wobei eine farblose, feinkristalline Substanz ausfiel. Sie wurde abgenutscht, mehrmals mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet, wodurch eine körnige Masse entstand. Die Fitrate wurden noch zweimal mit Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt, doch gaben diese Auszüge beim Eindampfen nur noch wenig Rückstand. Das oben genannte abgenutschte Rohprodukt wurde in Methanol-Chloroform gelöst und nach Einengen langsam mit viel Äther versetzt, wobei Kristallisation eintrat. Nochmaliges Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab 33 mg farbloses Kristallpulver vom Smp. 248 – 251°. Die Mischprobe mit Lakton A schmolz bei 260 – 275°. Zur Analyse Trocknung 8 Std. bei 100° (Schweinchen).

3,563 mg Subst. gaben 7,877 mg CO_2 und 2,582 mg H_2O
19,510 mg Subst. verbr. 0,292 cm³ 0,1-n-KOH (Laktontitration)[51]

$C_{41}H_{66}O_{16}$ (814,94) Ber. C 60,42 H 8,16 % Äquiv.-Gew. 814,94
Gef. C 60,33 H 8,11 % Äquiv.-Gew. 668,15

Der Stoff ist löslich in Alkohol und Methanol, fast unlöslich in Äther und Wasser.

Isolakton A-azetat.

10 mg Isolakton A vom Smp. 248 – 251° wurden in 1 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Azetanhydrid, wie bei Lakton A beschrieben, azetyliert. Aus Azeton-Äther wurden 9 mg farbloses Kristallpulver vom Smp. 278 – 279° erhalten. Die Mischprobe mit Azetat A schmolz bei 258 – 266°. Zur Analyse Trocknung bei 100°.

3,672 mg Subst. gaben 7,996 mg CO_2 und 2,330 mg H_2O

$C_{55}H_{80}O_{23}$ (1109,18) Ber. C 59,55 H 7,27 %
$C_{53}H_{78}O_{22}$ (1067,07) Ber. C 59,65 H 7,36 %
Gef. C 59,43 H 7,11 %

Hydrolyse des Laktons A.

Anhydrogenin A.

0,35 g Lakton A vom Smp. 284 – 285° wurden mit 12,5 cm³ abs. Alkohol und 12,5 cm³ 2proz. wässeriger Schwefelsäure 6 Std. unter Rückfluß gekocht. Die Kristalle gingen rasch in Lösung und nach 3 Stunden begann sich ein kristalliner Niederschlag auszuscheiden. Nach Abdampfen des Alkohols im Vakuum wurde abgenutscht, fünfmal mit wenig Wasser, dann mit Äther gewaschen und getrocknet. Das farblose rohe Anhydrogenin wog 180 mg und schmolz bei 240 – 255° unter Zersetzung. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum von Äther befreit und sechsmal mit je 5 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Chloroformlösung hinterließ nach dem Eindampfen noch 20 mg Anhydrogenin als farblosen Schaum (Verarbeitung der sauren wässerigen Lösung vgl. unten bei den Zuckern). Die 200 mg rohes Anhydrogenin gaben nach mehrmaligem Umkristallisieren aus abs. Alkohol 25 mg farblose Prismen vom Smp. 263 – 265° sowie 65 mg etwas weniger reine Kristalle und 100 mg kristalline Mutterlaugen. Zur Analyse wurde die beste Fraktion im Hochvakuum 3 Std. bei 100° getrocknet (Schweinchen).

4,756 mg Subst. gaben 13,324 mg CO_2 und 4,001 mg H_2O
11,610 mg Subst. verbr. 0,237 cm³ 0,1-n-KOH (Laktontitration)[59]
6,891 mg Subst. verbr. 0,677 cm³ H_2 (0°; 760 mm) (Hydrierung in Eisessig mit PtO_2).

$C_{29}H_{42}O_4$ (454,62) Ber. C 76,63 H 9,30 % Äquiv.-Gew. 454,62
$C_{30}H_{44}O_4$ (468,65) Ber. C 76,88 H 9,46 % Äquiv.-Gew. 468,65
Gef. C 76,45 H 9,41 % Äquiv.-Gew. 489,87
Gef. Doppelbindungszahl = 1,995 (ber. für Mol.-Gew. = 454,62)
Gef. Doppelbindungszahl = 2,036 (ber. für Mol.-Gew. = 468,65).

Der Stoff ist in Alkohol, Azeton und Methanol wenig, in Äther sehr schwer löslich und in Wasser fast unlöslich. In konz. Schwefelsäure wird eine hellrote Lösung erhalten, die sich beim Stehen über Orange, Gelb, Graubraun allmählich (nach 10 Std.) violett färbt. Bei der *Legal*-Probe in Pyridin wurde eine orange Färbung erhalten.

Anhydrogenin A-azetat.

100 mg kristalline Mutterlaugen des Anhydrogenins (Smp. 245 – 250°) wurden in 1 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Azetanhydrid wie bei «Azetylierung der Rohglykoside» beschrieben azetyliert. Das Rohprodukt wog 120 mg. Es wurde in abs. Benzol gelöst und mittels einer mit abs. Benzol bereiteten Säule aus 3,6 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten für jede Fraktion 12 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel.

[59] Wie bei [49], aber 14 Std. gekocht.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Rückstand	Smp. der Kristalle
1	Benzol	Spur	—
2	Benzol	Spur	136—141°
3	Benzol-Äther (1:1)	weißer Schaum	135—140°
4	Benzol-Äther (1:1)	wenig	137—138°
5	Benzol	Spur	—
6	Benzol-Chloroform (9:1)	Spur	—
7	Benzol-Chloroform (9:1)	wenig	205—209°
8	Benzol-Chloroform (1:1)	weißer Schaum	200—207°
9	Benzol-Chloroform (1:1)	weißer Schaum	192—199°
10	Chloroform	weißer Schaum	191—198°
11—12	Chloroform	Spur	
13—14	Chloroform-Methanol (4:1)	Spur	
15	Methanol	Spur	

Die Fraktionen 2 – 4 wurden vereinigt und aus Äther-Petroläther, dann aus Methanol umkristallisiert. Es resultierten 10 mg Kristalle vom Smp. 138 – 140° sowie 18 mg etwas weniger reines Material vom Smp. 135 – 138°. Zur Analyse wurde die Spitzenfraktion 2 Std. bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,706 mg Subst. gaben 10,248 mg CO_2 und 2,839 mg H_2O
0,202 mg Subst. (im Vakuum geschmolzen) gaben in 10,481 mg Campher $\triangle = 1{,}5°$ (Mol.-Gew.-Bestimmung nach *Rast*).

$C_{32}H_{46}O_5$ (510,69) Ber. C 75,25 H 9,08 %
$C_{31}H_{44}O_5$ (496,66) Ber. C 74,96 H 8,93 %
Gef. C 75,47 H 8,57 %
Gef. Mol.-Gew. = 505,72.

Es handelt sich offenbar um ein Monoazetat des Anhydrogenins. Der Stoff gibt in konz. Schwefelsäure eine gelbe Lösung, die sich innerhalb von 4 Std. über Grau, Schmutzigviolett und Graugrün gelb färbte.

Die Fraktionen 6 – 10 wurden vereinigt und aus Azeton-Äther, Methanol und Methanol-Äther umkristallisiert. Es resultierten 10 mg farblose Nadeln vom Smp. 168 – 172°. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Azeton-Äther sank der Smp. auf 141 – 143°. Zur Analyse wurde bei 100° getrocknet (Schweinchen).

3,704 mg Subst. gaben 8,170 mg CO_2 und 2,325 mg H_2O

$C_{55}H_{78}O_{22}$ (1091,17) Ber. C 60,54 H 7,21 %
$C_{53}H_{76}O_{21}$ (1049,14) Ber. C 60,67 H 7,30 %
Gef. C 60,20 H 7,02 %

Die Analyse stimmt somit am besten auf ein Monoanhydro-azetat A. Der Stoff gab in konz. Schwefelsäure fast gleiche Färbungen wie das Anhydrogenin-azetat vom Smp. 138 – 140°. Die Mischprobe gab jedoch eine Schmelzpunktserniedrigung von 15°.

Untersuchung der Zucker.

Die schwefelsaure wässerige Lösung wurde im Vakuum von Chloroformresten befreit, zur Spaltung eventueller Methylglykoside 2 Stunden unter Rückfluß gekocht, mit frisch gefälltem $BaCO_3$ heiß neutralisiert und durch ein mit $BaCO_3$ gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat, das *Fehling*'sche Lösung stark reduzierte, wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Methanol aufgenommen, filtriert und das Filtrat eingedampft. Es blieben 190 mg rohes Zuckergemisch als farbloser Schaum. Nach Aufnehmen in wenig Methanol und Impfen mit *d*-Glucose trat höchstens spurenweise Kristallisation ein.

Isolierung von d-Glucosazon.

50 mg des obigen Zuckergemisches wurden in 1 cm³ Wasser mit 120 mg Phenylhydrazin und 1 Tropfen Eisessig unter CO_2-Abschluß 2 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Hierauf wurde zur Vertreibung des CO_2 offen kurz aufgekocht und abgekühlt. Der Niederschlag wurde abgenutscht und mit 1proz. Essigsäure und Äther gewaschen. Das Rohprodukt schmolz bei 194–198°. Umkristallisieren aus Alkohol-Äther gab 20 mg hellgelbe Nadeln vom Smp. 197–199° (langsam erhitzt). Die Mischprobe mit authentischem *d*-Glucosazon schmolz (langsam erhitzt) ebenso, die Mischprobe mit *d*-Galaktosazon gab eine merkliche Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse Trocknung bei 70° (Schweinchen).

3,308 mg Subst. gaben 7,301 mg CO_2 und 1,837 mg H_2O
1,274 mg Subst. gaben 0,178 cm³ N_2 (21°; 727 mm)

$C_{18}H_{22}O_4N_4$ (358,36) Ber. C 60,32 H 6,19 N 15,63 %
Gef. C 60,23 H 6,21 N 15,52 %

Isolierung eines zweiten Osazons.

135 mg des rohen Zuckergemisches wurden mit 2 cm³ Leitungswasser und 2 cm³ Hefebouillon[60] aufgekocht, auf 25° abgekühlt, mit lebender Bäckerhefe[61] beimpft und 24 Std. bei 25° belassen. In dieser Zeit waren ca. 6 cm³ CO_2 (über Wasser aufgefangen) entwickelt und die Gärung beendet. Der Ansatz wurde mit etwas gewaschener Kohle aufgekocht und durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter abgenutscht. Das farblose Filtrat reduzierte *Fehling*'sche Lösung noch stark. Es wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (110 mg) wurde mit wenig Methanol verflüssigt und mit abs. Alkohol versetzt. Die flockige Fällung wurde durch Filtration entfernt. Das Filtrat hinterließ beim Eindampfen ca. 90 mg glucosefreien, rohen Zuckersirup als farblosen Schaum. Er wurde wie oben mit 1 cm³ Wasser, 200 mg Phenylhydrazin und 2 Tropfen Eisessig

[60] 5 g Bäckerhefe in 50 cm³ Leitungswasser angeschlemmt, zum Sieden erhitzt, dann 5 Minuten gekocht und nach Erkalten auszentrifugiert. Die gelbe Lösung wurde bei 0° aufbewahrt.

[61] Eine Spur käuflicher Bäckerhefe wurde in 10 cm³ Leitungswasser, 10 cm³ Hefebouillon[60] und 1 g Glucose suspendiert und nach beendeter Gärung wieder eine Spur entnommen.

2 Std. unter CO_2 erhitzt und das CO_2 zum Schluß durch Aufkochen vertrieben. Das schmierig abgeschiedene rohe Osazon gab aus Benzol, das eine Spur Alkohol enthielt, gelbe Kristalle. Umkristallisieren aus viel Äther lieferte 8 mg hellgelbes Kristallpulver vom Smp. 150 – 153°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_{5461}^{20} = -25{,}7 \pm 6°$ (c = 0,35 in absol. Alkohol). nach ... Stunden).

3,5 mg Subst. zu 1,0094 cm³; l = 1 dm; $\alpha_{5461}^{20} = -0{,}09° \pm 0{,}02°$.

Der Smp. und die Drehung schienen für *d*-Xylosazon[62] zu sprechen. Die Mischprobe mit authentischem, sehr fein kristallinem *d*-Xylosazon, das nach starkem Verreiben und bei langsamem Erhitzen einen Smp. von 148 – 149° zeigte, schmolz bei 141 – 149°, gab also eine geringe, aber wahrscheinlich reelle Depression. Die Mischprobe mit einer möglichst gleichen Menge von authentischem *l*-Xylosazon, das nach starkem Verreiben einen Smp. von 156 – 160° zeigte, schmolz bei 148 – 162°, gab also *keine* eindeutige Depression, zeigte aber auch nicht die typische Schmelzpunktserhöhung, die beim Mischen gleicher Mengen *d*- und *l*-Xylosazon beobachtet wird[63]. Endlich zeigte die Analyse, daß es sich höchtwahrscheinlich um ein Hexosazon handelt (Trocknung 1 Std. bei 60°).

3,404 mg Subst. gaben 7,524 mg CO_2 und 1,890 mg H_2O

$C_{18}H_{22}O_4N_4$ (358,36) Ber. C 60,32 H 6,19 %
Gef. C 60,32 H 6,21 %

Azetat C.

Dieses Azetat wurde aus den mit Chloroform eluierten Fraktionen der azetylierten Rohglykoside der ersten Samensendung erhalten. Aus 2 kg frischen Samen wurden 200 mg isoliert. Zur Reinigung wurde es aus Azeton-Äther, dann aus Azeton-Methanol umkristallisiert. Das gelbliche Kristallpulver schmolz bei 131 – 132° und erwies sich als stickstoff- und schwefelhaltig.

3,808 mg Subst. gaben 5,088 mg CO_2 und 2,060 mg H_2O
3,200 mg Subst. gaben 0,220 cm³ N_2 (17°; 718 mm)
4,139 mg Subst. verbr. 3,190 cm³ 0,02-n-KJO_3 (S-Bestimmung nach Bürger)[64]

$C_{12}H_{24}O_6N_2S_3$ (388,51) Ber. C 37,09 H 6,23 N 7,21 S 24,76 %
$C_{13}H_{24}O_6N_2S_3$ (400,52) Ber. C 38,98 H 6,04 N 7,00 S 24,01 %
Gef. C 36,46 H 6,05 N 7,65 S 24,71 %

[62] *P. A. Levene, F. B. La Forge*, Journ. Biol. Chem. *20*, 429 (1915) fanden für *d*-Xylosazon $[\alpha]_D = -0{,}43°$ (in Alkohol-Pyridin, nach 18 – 24 Std.). *M. Ehrenstein*, Helv. *9*, 332 (1926) fand $[\alpha]_D = -40{,}9°$ (in Alkohol). Wir bestimmten die Drehung von authentischem *d*-Xylosazon vom Smp. 162 – 164° und fanden $[\alpha]_D^{22} = -25{,}0° \pm 4°$ (nach ½ Std.), bzw. $-33{,}3° \pm 4°$ (nach 24 Std.) (c = 0,48 in abs. Alkohol).

[63] Die Schmelzpunktserhöhung beruht auf der Bildung von *d*, *l*-Xylosazon, das nach *E. Fischer, O. Ruff*, Ber. dtsch. chem. Ges. *33*, 2142 (1900) bei 210 – 215° schmilzt.

[64] *K. Bürger*, Z. Angew. Chem. *54*, 479 (1941); *55*, 245 (1942).

Der Stoff war leicht löslich in Azeton, schwer in Methanol und in Äther. Bei der *Legal*-Reaktion wurde keine Färbung erhalten. In konz. Schwefelsäure gab er eine rote Lösung, die bald über Orange in Braun überging. Die Tetranitromethan-Probe gab eine gelbe Färbung.

Azetat D.

Dieses Azetat wurde aus den mit Benzol-Chloroform (9 : 1) und (4 : 1) eluierten Fraktionen der ersten Samensendung isoliert. (Bei der Verarbeitung der zweiten Samensendung wurden diese leicht eluierbaren Anteile weniger sorgfältig getrennt.) Aus 2 kg frischen Samen wurden 1 g reine Kristalle erhalten. Das Produkt wurde durch Umkristallisieren aus Azeton und aus Äther gereinigt und stellte dann farblose Nadeln dar, die bei 162 – 164° schmolzen. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = -27{,}9° \pm 2°$ (c = 1,182 in Chloroform) (Trocknung bei 80°).

11,935 mg Subst. zu 1,0094 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{18} = -0{,}32° \pm 0{,}02°$
3,708 mg Subst. gaben 9,234 mg CO_2 und 2,950 mg H_2O
0,837 mg Subst. (2 Tage über P_2O_5 getrocknet) gaben in 13,071 mg Campher $\triangle = 3{,}4°$ (Mol.-Gew.-Bestimmung nach *Rast*).

$C_{41}H_{64}O_{10}$ (716,92) Ber. C 68,68 H 9,00 %
$C_{43}H_{68}O_{11}$ (760,97) Ber. C 67,86 H 9,00 %
$C_{44}H_{70}O_{11}$ (775,00) Ber. C 68,19 H 9,11 %
Gef. C 67,96 H 8,90 %
Gef. Mol.-Gew. = 741,30.

Der Stoff war frei von Stickstoff und Schwefel und gab bei der *Legal*-Reaktion *keine Färbung*. 2 mg Substanz, in möglichst wenig Chloroform gelöst, gaben auf Zusatz von Tetranitromethan eine Gelbfärbung. In konz. Schwefelsäure löste sich der Stoff farblos.

Substanz D.

50 mg Azetat D vom Smp. 162 – 164° wurden mit 50 mg KOH in 1 cm³ Wasser und 10 cm³ Methanol 2 Std. unter Rückfluß gekocht. Es trat keine vollständige Lösung ein. Der ungelöste Anteil wurde abfiltriert und mit Wasser und Methanol gewaschen. Die Filtrate wurden eingedampft, worauf eine kristalline Masse ausfiel, die abgenutscht und wie oben gewaschen wurde. Beide Fällungen wurden vereinigt, in Methanol-Chloroform (1 : 1) heiß gelöst und nach Zusatz von abs. Alkohol eingeengt, worauf sich etwas schleimige Kristalle abschieden. Nach nochmaligem Umkristallisieren in derselben Weise wurden 35 mg farbloses Kristallpulver erhalten, das bei 268 – 278° unter Zersetzung schmolz. Zur Analyse Trocknung bei 100° (Schweinchen).

3,390 mg Subst. gaben 9,684 mg CO_2 und 3,425 mg H_2O

$C_{33}H_{56}O_6$ (548,75) Ber. C 72,22 H 10,26 %
$C_{35}H_{60}O_7$ (592,83) Ber. C 70,94 H 10,20 %

$C_{36}H_{62}O_7$ (606,86) Ber. C 71,25 H 10,30 %
Gef. C 71,62 H 10,39 %

In Chloroform und in Methanol war das Produkt schwer, in Wasser und Äther praktisch unlöslich.

Reazetylierung. 15 mg Substanz D wurden mit Pyridin-Azetanhydrid azetyliert, wobei wieder Azetat D vom Smp. 162 – 164° (Mischprobe) erhalten wurde.

Azetat E.

Diese Substanz wurde nur aus der zweiten Samensendung isoliert, und zwar aus den mit Benzol-Chloroform (4 : 1) eluierten Fraktionen. 3 kg frische Samen gaben 300 mg reine Kristalle (Mutterlaugen nicht verarbeitet). Aus Äther-Petroläther sowie aus Azeton-Äther umkristallisiert, wurden Nadeln vom Smp. 176 – 177° erhalten. Nach anschließendem Umkristallisieren aus Methanol schmolz der Stoff bei 168 – 169°. Er war frei von N und S.

3,798 mg Subst. gaben 8,773 mg CO_2 und 2,554 mg H_2O
1,136 mg Subst. (2 Tage über P_2O_5 getrocknet) gaben in 14,555 mg Campher $\triangle = 4{,}3°$ (Mol.-Gew-.-Bestimmung nach *Rast*).

$C_{37}H_{52}O_{13}$ (704,79) Ber. C 63,05 H 7,44 %
Gef. C 63,04 H 7,52 %
Gef. Mol.-Gew. = 714,42.

Azetat E war in Azeton und in heißem Methanol leicht, in Äther, Petroläther und kaltem Methanol schwer löslich. Bei der *Legal*-Reaktion gab es eine lebhaft orangerote Färbung, die viel länger anhielt als die rote Farbe der Laktone des Digitalis-Typs. In konz. Schwefelsäure lösten sich die Kristalle mit gelber Farbe. Bei der Tetranitromethanprobe trat schwache Gelbfärbung ein. Hingegen zeigte die alkoholische Lösung im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 241 – 242 mμ und log ε = 4,34 (ber. für Mol.-Gew. 714,42) (vgl. Kurve im theoret. Teil), wie sie für α, β-ungesättigte Ketone typisch ist. (Auch Stoffe mit zwei konjugierten Doppelbindungen können eine solche Absorption zeigen, doch ist das Vorliegen einer solchen Gruppierung wegen der negativen Tetranitromethanprobe sehr unwahrscheinlich.)

Substanz E.

100 mg Azetat E vom Smp. 168 – 169° wurden in 25 cm³ Methanol gelöst, mit der kalt bereiteten Lösung von 100 mg $KHCO_3$ in 5 cm³ Wasser versetzt und 10 Tage bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 20° Badtemperatur auf 2 cm³ eingeengt, die klare Lösung fünfmal mit je 5 cm³ Chloroform ausgeschüttelt und die Auszüge im Gegenstrom zweimal mit je 1 cm³ Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es blieben 80 mg Rückstand als weißer Schaum.

Die verbleibende wässerige Lösung wurde nun noch fünfmal mit Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge lieferten noch 25 mg schmierigen Rückstand.

Der schaumige Chloroform-Extrakt lieferte nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther 65 mg farblose Nadeln vom Smp. 196 – 197°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = +104{,}4° \pm 2°$ (c = 1,417 in Methanol) (Trocknung bei 100°).

14,372 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1{,}48° \pm 0{,}02°$
Trocknung zur Analyse bei 100° (Schweinchen)
3,724 mg Subst. gaben 8,890 mg CO_2 und 2,715 mg H_2O

$C_{30}H_{46}O_9$ (550,68) Ber. C 65,43 H 8,43 %
$C_{29}H_{44}O_9$ (536,64) Ber. C 64,90 H 8,26 %
Gef. C 65,15 H 8,16 %

Vorausgesetzt, daß die Molekulargewichtsbestimmung des Azetats E richtig ist, kommt für Substanz E am ehesten die Formel $C_{29}H_{44}O_9$ in Betracht (für das um eine CH_2-Gruppe höhere Homologe stimmen die Werte beim Azetat weniger gut). Azetat E wäre demnach ein Tetraazetat.

Substanz E verbraucht beim Kochen mit alkoholischer Kalilauge *kein* Alkali, verhält sich also nicht wie ein Lakton. Sie ist leicht löslich in Wasser und in Methanol, schwer in Äther. Bei der *Legal*-Reaktion wird wie beim Azetat eine lange anhaltende orange-rote Farbe erhalten. In konz. Schwefelsäure entstand langsam (nach ca. 5 Minuten) eine gelbe Lösung, die innerhalb 16 Std. in Blaugrün überging. Substanz E zeigte am isolierten Froschherzen keine digitalisartige Wirkung[65].

Azetat F.

Dieses Azetat wurde nur aus der ersten Samensendung aus den Mutterlaugen von Azetat D isoliert, aus denen auch Azetat G erhalten wurde. Aus Äther kristallisierte es in farblosen Nadeln, die bei 192 – 193° schmolzen. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +28{,}0° \pm 2°$ (c = 1,329 in Chloroform) (Trocknung bei 80°).

14,653 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $[\alpha]_D^{20} = +0{,}39° \pm 0{,}02°$
3,714 mg Subst. gaben 8,675 mg CO_2 und 2,592 mg H_2O
1,039 mg Subst. (2 Tage über P_2O_5 getrocknet) gaben in 13,549 mg Campher $\triangle = 3{,}9°$ (Mol.-Gew.-Best. nach *Rast*)

$C_{42}H_{62}O_{14}$ (790,92) Ber. C 63,79 H 7,90 %
$C_{39}H_{58}O_{13}$ (734,85) Ber. C 63,74 H 7,94 %
Gef. C 63,74 H 7,81 %
Gef. Mol.-Gew. = 773,93.

Azetat F war in Benzol und in Azeton leicht löslich. Es war frei von N und S. Bei der *Legal*-Reaktion wurde keine Färbung erhalten. Die Lösung in

[65] Die biologische Prüfung wurde im Juli 1945 im pharmakologischen Laboratorium der Ciba AG., Basel, durchgeführt.

konz. Schwefelsäure war zuerst gelb, nach 1 Std. rotbraun und nach 2 Std. rot. Die Mischprobe mit dem bei 198 – 199° schmelzenden Azetat G gab eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 14°. Die Tetranitromethanprobe zeigte schwache Gelbfärbung.

Azetat G.

Dieses Azetat wurde neben Azetat F aus der ersten Samensendung aus den Mutterlaugen von Azetat D erhalten. Es kristallisierte aus Azeton in Nadeln vom Smp. 198 – 199°, die bei der Mischprobe mit Azetat F eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 14° gaben. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +87{,}5° \pm 2°$ (c = 0,972 in Chloroform) (Trocknung bei 80°).

9,812 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0{,}85° \pm 0{,}02°$
3,752 mg Subst. gaben 9,346 mg CO_2 und 3,020 mg H_2O
0,473 mg Subst. (2 Tage über P_2O_5 getrocknet) gaben in 14,218 mg Campher $\triangle = 1{,}7°$ (Mol.-Gew.-Bestimmung nach *Rast*)

$C_{43}H_{68}O_{11}$ (760,97) Ber. C 67,86 H 9,00 %
$C_{44}H_{70}O_{11}$ (775,00) Ber. C 68,19 H 9,11 %
Gef. C 67,98 H 9,01%
Gef. Mol.-Gew. = 770,24.

Azetat G war in Äther leicht, in Azeton schwerer löslich. Bei der Tetranitromethanprobe gab es eine Gelbfärbung. Die Legal-Reaktion war negativ. In konz. Schwefelsäure löste es sich im ersten Moment rot, die Farbe ging jedoch fast sofort in Orange und nach 1 Std. in Violett über.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

Curriculum vitae

Als einziger Sohn des Heinrich Schwarz, Verwaltungsbeamter, und der Elise geb. Erb wurde ich, Heinrich Albert Schwarz, am 8. August 1917 in Seuzach (Zürich) geboren. Ich besuchte die Primarschule in Seuzach und während sieben Jahren das Gymnasium in Winterthur, wo ich im Jahre 1936 die Reifeprüfung bestand.

Im selben Jahre immatrikulierte ich mich an der Eidgen. Techn. Hochschule in Zürich zum Studium der Pharmazie. Nach Abschluß des Fachstudiums und bestandenem Staatsexamen im Jahre 1942 begann ich im Herbst 1943 unter der Leitung von Herrn Prof. T. Reichstein in der pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel mit wissenschaftlichen Studien über Goldlacksamen, deren Ergebnis den Inhalt der vorliegenden Dissertation bildet.

Im Verlaufe meiner Studien besuchte ich Vorlesungen und Praktika bei den Herren Professoren: J. Büchi, R. Eder, H. Erlenmeyer, H. Fischer, H. Flück, E. Gäumann, W. von Gonzenbach, G. Guggenbühl, P. Jaccard, W. Koch, T. Reichstein, P. Ruggli, L. Ruzicka, P. Scherrer, F. Tank, W. D. Treadwell. Das Apothekenpraktikum und das Assistentenjahr absolvierte ich bei Herrn Dr. O. Brunner, Paradiesvogelapotheke, Zürich.